Beiträge

zur

Morphologie des Milzbrandbacillus.

Inaugural-Dissertation

der

hohen medizinischen Fakultät der Universität Giessen zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Richard Klett,

prakt. Tierarzt aus Stuttgart.

Karlsruhe.
Druck von Friedrich Gutsch.
1894.

Beiträge

zur

Morphologie des Milzbrandbacillus.

Inaugural-Dissertation

der

hohen medizinischen Fakultät der Universität Giessen zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Richard Klett,

prakt. Tierarzt aus Stuttgart.

Karlsruhe.
Druck von Friedrich Gutsch.
1894.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538127_0050

Den Manen meiner Eltern

aus Dankbarkeit.

Eingeweihten ist bekannt, dass bei der grossen Anzahl neuerer Publikationen über den Milzbrand und den Milzbrandbacillus verhältnismässig wenige sich mit der Morphologie dieses Krankheitserregers befassen. Seit Koch's grundlegenden Arbeiten ist überhaupt auf diesem Gebiete wenig mehr geschehen. Durch die Beschreibung Koch's stand die äussere Gestalt des Milzbrandbacillus fest. Sie fand allgemeine Anerkennung und wurde mit kleinen Abänderungen in alle Lehrbücher, welche sich mit der Kenntnis des Milzbrandbacillus befassen, übertragen. Sie hat sich bis zur Zeit fast stereotyp erhalten. Koch's Feststellungen enthalten eine Differenzierung des Milzbrandbacillus in Schichten noch nicht. Hierin mit Erfolg einen Anfang gemacht zu haben, ist das Verdienst von Schottelius und Serafini, denen Johne späterhin gefolgt ist. Die Johne'sche Arbeit beschränkt sich aber nicht auf diesen Teil der Frage, sondern Johne hat auch die bekannten charakteristischen Merkmale des Milzbrandbacillus, abgesehen von seiner Grösse, bestritten und damit eine ernste Streitfrage heraufbeschworen.

Diese Sachlage hat mich veranlasst, in die Behandlung der Frage von der Morphologie des Milzbrandbacillus durch eingehende litterarische Studien und eigene Untersuchungen einzutreten. Die nachstehende Arbeit enthält die Ergebnisse meiner Bemühungen, welche darauf gerichtet waren, die Morphologie des Milzbrandbacillus, soweit als nur möglich, kritisch und experimentell festzustellen.

Der oben ausgesprochenen Absicht zur Folge, hat die Arbeit einen litterarischen und einen experimentellen Teil. Den Schluss bildet eine übersichtliche Darstellung der Ergebnisse beider.

. . . . . Was die Prioritätsfrage in der Entdeckung des Milzbrandbacillus anbelangt, so folge ich den Ausführungen Bollinger's (1). Nach ihm muss Pollender (2) als der erste Entdecker angesehen werden. Die Pollender'sche Entdeckung hat bestimmt schon im Jahre 1849 stattgefunden, während seine Arbeit über den Gegenstand aus dem Jahre 1855 datiert. Bekanntermassen fand er als dritte

und auffallendste Art mikroskopischer Körperchen, welche im Milzbrandblute sich dem starkbewaffneten Auge darboten, eine unendliche Menge stäbchenförmiger Körperchen, welche späterhin den Namen „Pollender'sche Körperchen" erhielten. Unabhängig von Pollender entdeckte die stäbchenförmigen Körperchen auch Brauell (3) im Jahre 1857 im Blute von an Milzbrand verendeten Pferden, Schafen und Menschen. Weiterhin wären als Entdecker oder solche, welche sich mit den stäbchenförmigen Körperchen in hervorragender Weise beschäftigt haben, Rayer, Delafond und Davaine (4, 5, 6) anzuführen. Der Vollständigkeit wegen sei noch Fuchs (7) erwähnt, dessen Namen in verschiedenen Werken als derjenige des ersten Entdeckers verzeichnet ist. Schon im Jahre 1842 will er, ohne, wie er in seinem Artikel selbst sagt, einen Anspruch auf Priorität zu machen, granulierte Fäden in grosser Anzahl bei einer Kuh gesehen haben anlässlich einer Milzbrandenzootie bei Berlin, die er polizeilich zu behandeln hatte.

Nach der Entdeckung der stäbchenförmigen Körperchen wandte sich denselben bald die Aufmerksamkeit der interessierten Kreise zu, ohne dass dadurch die Kenntnis von ihrer Morphologie eine erhebliche wurde. Vielmehr war man fast allgemein darauf bedacht, zu eruieren, in welchem Zusammenhang die Körperchen mit der Milzbrandkrankheit stünden. Ferner suchte man die Frage nach der Natur derselben zum Gegenstand der Forschung zu machen.

Es ist das Verdienst Davaine's, die Beziehung zwischen den stäbchenförmigen Körperchen und dem Milzbrande zuerst festgestellt zu haben. Im Jahre 1863 wurde er auf grund einer Reihe von Arbeiten zu dem Schlusse geführt, dass durch die Anwesenheit der stäbchenförmigen Körperchen im Blute der Tiere oder des Menschen Veränderungen sich einstellen, welche den Tod des infizierten Wesens herbeiführen. Er erbrachte damit den Beweis, dass sie allein die Träger der Infektion sind. Die grosse Anzahl von Gegnern, welche alsbald gegen die Untersuchungen und Ergebnisse Davaine's ankämpften, konnten nur durch ihre Resultate zur Befestigung und Stütze seiner Lehre beitragen. Wenn gewisse Forscher die Lehre Davaine's dadurch in's Schwanken zu bringen suchten, dass sie ein chemisches Agens in Gestalt des Anthracins als wirksames Prinzip aufstellten, so verhalf endgiltig Koch (8) durch seine geistvollen Untersuchungen der Sache Davaine's zum vollständigen Siege, indem er nachwies, dass ohne Milzbrandbazillen die Entwicklung der Milzbrandkrankheit undenkbar ist.

Ueber die Natur der stäbchenförmigen Gebilde hatten sich die verschiedensten Ansichten geltend gemacht. Brauell und Fuchs nannten die Körperchen Vibrionen. Davaine gab im Jahre 1864 folgende Definition: Die Stäbchen seien lebende, organisierte Wesen, die sich nach Art solcher entwickeln und vermehren. Zum Unterschiede von den sich bewegenden Fäulnisbakterien nannte er sie Bakteridien. Delafond und Bender gaben sie für Algen aus. Leisering hielt sie für Fibrinausscheidungen oder Gewebstrümmer, trat aber späterhin dem Gedanken von Virchow, Müller und Anacker bei, welche die stäbchenförmigen Körperchen für Blutkrystalle ansahen. Bruckmüller war für die Auffassung von Faserstoffausscheidungen. Als Torulaform sprach sie Bollinger an, wogegen sie F. Cohn für Bazillen erklärte.

Die Beschreibungen der morphologischen Verhältnisse des Milzbrandbacillus sind entweder auf grund ungefärbter oder gefärbter Präparate gegeben. Je nachdem die eine oder die andere Art der Präparatendarstellung zur Anwendung gelangte, schliessen sich die späteren Untersucher mehr oder weniger der Beschreibung des ersten Autors an. So muss als Repräsentant für die auf ungefärbten Präparaten basierenden Beschreibungen Pollender, als solcher für gefärbte Koch genannt werden. Alle diese Beschreibungen befassen sich vorwiegend mit der äusseren Form der Milzbrandbazillen. Eine audere Reihe von Arbeiten beschäftigt sich mit der inneren Einrichtung derselben.

Ich gebe die Aufzählung der die morphologischen Verhältnisse des Milzbrandbacillus behandelnden Arbeiten dementsprechend in 3 Abschnitten:

1) Beschreibungen, die auf dem Studium ungefärbter Präparate beruhen;
2) Beschreibungen, die auf dem Studium gefärbter Präparate beruhen.

Beide Arten betreffen nur die Kriterien der äusseren Form.

3) Beschreibungen, welche auf Grund ungefärbter und gefärbter Präparate äussere Gestalt und innere Einrichtung berücksichtigen.

Die Pollender'sche Beschreibung (l. c.) lautet folgendermassen:

„Aeusserst feine, anscheinend solide, nicht ganz durchsichtige, ihrer ganzen Länge nach gleich dicke, nicht geschlängelte, nicht wellenförmige, nicht eingeschnürte,

sondern ganz gerade, platte, in ihrem Verlauf nicht verästelte Körperchen von 0,0025—0,0050‴ Länge und $^1/_{3000}$‴ Breite."

Brauell (l. c.) schreibt:

„Die Körperchen stimmten in Grösse und sonstiger Beschaffenheit mit den von Pollender beschriebenen überein, nur mit dem Unterschiede, dass ein grosser Teil länger war, als die längsten von Pollender beobachteten, ein kleiner Teil aber um die Hälfte und mehr kürzer als die kürzesten von Pollender gesehenen. Einzelne Individuen der längeren Gattung waren in der Mitte ihres Längsdurchmessers knieartig gebogen und nahmen sich aus wie zwei aneinanderhaftende Exemplare."

In einem späteren Aufsatz schildert sie Brauell (9) wie folgt:

„In Bezug auf die Form dieser stäbchenförmigen Körperchen muss ich hinzufügen, dass ich in neuerer Zeit nicht selten neben den gestreckten auch einzelne andere Exemplare gesehen habe, welche an einer Stelle oder an mehreren eingeknickt waren."

Von der wortgetreuen Anführung der Beschreibungen französischer Autoren glaube ich, Abstand nehmen zu dürfen, insofern sich dieselben ganz eng an die vorhergehenden anlehnen. Indessen sei erwähnt, dass Davaine (l. c.) bei sehr starker Vergrösserung Spuren einer Teilung in Segmente wahrnahm, welche, wenn das Blut zu faulen beginne, klarer ausgedrückt erschienen.

Nach Bender (10)

„stellte sich der Parasit als äusserst dünnes, stark lichtbrechendes Stäbchen dar. Mitunter waren an den Enden, welche in der Regel abgerundet erschienen, sehr kleine bläschenartige Anschwellungen vorhanden."

Semmer (11) beschreibt sie als: „zarte, scharf kontourierte Gebilde ohne Gliederung, meist alle von der gleichen Länge, bewegungslos, einzelne unter stumpfem Winkel gebogen."

Bollinger (l. c. p. 69) gibt in seiner Schrift an:

„Die Bakterien, wie sie im Blute milzbrandiger Tiere vorkommen, sind in der Regel gerade, seltener leicht gebogene oder stumpfwinklig eingeknickte, zylindrische, stäbchenartige Körperchen. Im frischen Zustande, unmittelbar aus dem Tierkörper untersucht, sind sie von kaum messbarer Breite, dagegen im aufgequollenen und getrockneten Zustand bis zu 0,8—1,0 μ breit. Ihrem weiteren Aussehen nach sind sie blass, von matter Lichtbrechung und niemals verzweigt; eine scheinbare Verzweigung ent-

steht nicht selten durch Aneinanderlagerung zweier Stäbchen. Frische Stäbchen zeigen bei mittlerer und stärkerer Vergrösserung keine Gliederung oder es ist dieselbe nur hie und da schwierig zu erkennen. Dagegen sieht man bei sehr starker Vergrösserung — 800 bis 1200fach — an jedem Stäbchen mehr oder weniger deutlich den gegliederten Bau. Durch verschiedene Methoden, namentlich durch Aufquellen mit Wasser und nachherige Eintrocknung, sowie während des Zerfalls der Stäbchen, lässt sich die Gliederung sehr deutlich machen."

Siedamgrotzky (12) macht folgende Angabe:

„Die Milzbrandbakterien stellen feine, stäbchenförmige Gebilde dar, welche gestreckt oder stumpfwinklig geknickt erscheinen und nie Bewegungserscheinungen zeigen. Ihre Länge wechselt erheblich; im Blute kommen 0,004—0,018 mm lange, in der Milz noch etwas längere Stäbchen vor; die erheblichste Ausdehnung erlangen sie jedoch im Impfkarbunkel, wo sie bis zu 0,045 mm lang gefunden wurden. Sie sind gegliedert und zwar so, dass ohne Einschnürungen der Längskontouren (wie man es aus den Abbildungen Bollinger's schliessen könnte) Scheidewände vorkommen, welche die Stäbchen in kurze, zylindrische, $1^1/_2$ mal solange als breite Glieder teilen. Nur die Endzylinder jedes Stäbchens erscheinen kürzer, rundlicher. Diese Gliederung ist mit besseren Systemen nicht schwierig zu erkennen, deutlicher wird sie allerdings nach dem von Bollinger empfohlenen Aufquellen in Wasser."

Frisch (13) erwähnt folgendes:

„Es sind feine, platte, bandförmige, von vollkommen geraden Figuren begrenzte, gleichmässig dicke, ziemlich stark lichtbrechende, stäbchenförmige Gebilde, an welchen keine Einschnürungen, wohl aber sehr zarte Querstreifen als Ausdruck der Gliederung zu sehen sind."

Bei der Anführung nachstehender, auf gefärbten Präparaten basierenden Beschreibungen habe ich mich nur der neuesten Auflagen der gebräuchlichsten bakteriologischen Werke bedient. In historischer Reihenfolge wären folgende aufzuzählen:

Koch (14) beschreibt die Milzbrandbazillen auf Grund eines mit Anilinbraun gefärbten Präparates aus der Milzpulpa einer Maus, untersucht in Glycerin, in nachstehender Weise:

„Die Bazillen ungemein kräftig und dunkel. Zugleich fällt aber auch auf, dass die Bazillen zwar nicht in der

Länge und Breite verändert sind, aber doch deutlich gegliedert und an dem Ende nicht abgerundet, sondern abgestutzt erscheinen. Ausserdem ist die Gliederung insofern eigentümlich, dass die Glieder nicht durch eine einfache Querlinie geschieden sind, sondern dass die helle Trennungslinie in der Mitte eine kleine Anschwellung besitzt, und dass die Verbindungsstelle zwischen zwei Gliedern eine schwache knotenförmige Verdickung zeigt. Beim ersten Anblick macht deswegen der Bacillus den Eindruck, als ob er in regelmässigen Abständen mit hellen Punkten besetzt wäre. Dieses aussergewöhnliche Verhalten beim Eintrocknen findet sich bei keinem von allen anderen Bazillen, die ich bis jetzt untersucht habe, wieder. Höchstens wird die Gliederung durch das Trocknen und Färben der Bazillen und ihrer Ketten ein wenig prägnanter. Aber dieses abgestutzte und punktirte Aussehen, wie es der getrocknete und gefärbte Milzbrandbacillus annimmt, ist für diesen so charakteristisch, dass man dasselbe zur Diagnose des Milzbrandes mit vollkommener Sicherheit benützen kann."

Flügge (15) erwähnt von denselben:

„Die Stäbchen erscheinen etwas anders in Präparaten, welche durch Eintrocknen einer dünnen Schicht des Blutes, der Milzpulpa u. s. w. und nachfolgendes Färben hergestellt sind. Die Bazillenketten sind dann deutlich gegliedert; die einzelnen Bazillen zeigen sich in Länge und Breite nicht verändert, aber an den Enden abgestutzt, nicht abgerundet; die Glieder sind nicht durch eine einfache Querlinie geschieden, sondern die helle Trennungslinie besitzt in der Mitte eine kleine Anschwellung, und die Verbindungsstelle zwischen zwei Gliedern zeigt somit eine schwache knotenförmige Verdickung."

Zürn im Verein mit Plaut (16) erwähnen als spezielle Eigenschaften des Milzbrandbacillus:

„Abgestutztsein an den beiden Leibesenden, mehr bei den im Blut, als bei in den Geweben milzbrandkranker Tiere befindlichen Bazillen deutlich hervortretend; in den Stäbchen helle, unregelmässig verteilte Flecke, wo im Plasma des Stäbchens ein heller Fleck, der aussen am Bacillus geringe knotige Anschwellung, wodurch Gegliedertsein desselben vorgetäuscht wird."

Baumgarten (17) gibt folgende Beschreibung:

„Deutlich tritt sie (die Gliederung) dagegen hervor bei Anwendung kernfärbender Anilinfarbstoffe, namentlich Bismarckbraun oder Vesuvin, welche beide braune Farbstoffe vor dem Methylviolett oder dem Fuchsin den Vorzug besitzen, dass sie nicht leicht Ueberfärbung, wodurch die

Substanz der Zwischenwände ebenso stark gefärbt wird, wie das Bakterienprotoplasma und mithin die Differenzierbarkeit beider verloren geht, bewirken. Die Form der einander berührenden Endstücke der einzelnen Glieder der Milzbrandstäbchen oder -Fäden ist ganz charakteristisch; soviel wir wissen, existiert kein Bakterium, bei welchem die gleiche Erscheinung zu beobachten wäre. Es sind also die Milzbrandbazillen allein schon durch das mikroskopische Formverhalten mit Sicherheit von allen übrigen Bakterien zu unterscheiden. Die erwähnte Eigentümlichkeit besteht darin, dass die Enden der zylindrischen Bakterienzellen an der Längsseite leichter kolbig anschwellen, sodann aber nach der Schmalseite hin nicht, wie bei vielen anderen Bakterien, in eine halbkugelig oder kugelsegmentartig gestaltete, sondern in eine anfangs plane Fläche übergehen, welche nach der Mitte hin grubig einsinkt, sodass also die Verbindungsfläche der Bazillenzellen im Ganzen etwa die Form eines tiefen Tellers besitzt. Eine scharfe, kantige Absetzung der Schmal- von der Längsseite finden wir auch noch bei manchen anderen Bazillen wieder; die Vereinigung dieses Verhaltens aber mit der kolbigen Verdickung der Enden und besonders der zentralen dellenförmigen Vertiefung der Verbindungsflächen kommt unter allen uns bekannten Bazillen eben allein den Milzbrandbazillen zu.“

Nach Carl Fränkel (18) lautet die Schilderung wie folgt:

„Rühren dagegen die Bakterien aus dem Blute oder Gewebssafte an Milzbrand verstorbener Tiere her, so macht sich häufig bei der Färbung ein ganz eigentümliches Verhalten bemerklich. Zuweilen erweist sich eine schmale, mittlere Zone im Innern der Zelle, die parallel mit der Längsachse des Stäbchens verläuft, dem Farbstoff besonders zugänglich und hebt sich als dunkle Masse von der blassen Umgebung ab, die wie eine mächtige Kapsel, wie ein weiter Hof erscheint. Namentlich bei rascher Färbung mit Ziehl'scher Lösung oder mit Carbolmethylenblau gelingt es, solche Bilder zu erzielen, welche die Annahme nahelegen, dass man da einen Bakterienkern mit einem Protoplasmaleibe vor sich habe.“

„In den meisten Fällen jedoch ist das Aussehen der Stäbchen im Ausstrichpräparate noch ein anderes. Dieselben lassen keinen Unterschied zwischen Zentrum und Peripherie mehr erkennen, sondern fallen durch die sehr bemerkenswerte Form der Endstücke auf. Die letzteren sind nämlich deutlich kolbig und verdickt; die schmale Seite ist von der langen scharf abgesetzt, sinkt aber nach der Mitte hin in

eine flache Vertiefung ein. So kommt es, dass immer zwischen zwei Gliedern dort, wo sie zusammentreffen, eine ovale Lichtung entsteht; da man sich die einzelne Zelle ja nicht als ein plattes Gebilde, sondern als einen gleichmässig rundlichen oder zylindrischen Stab vorzustellen hat, so entspricht die Gestaltung der Enden etwa derjenigen, welche das obere Stück des Radius, seine Gelenkverbindung mit dem Oberarmknochen, besitzt."

„Findet sich eine längere Reihe von Stäbchen zu einem grösseren Verbande zusammen, so wird man durch die in regelmässigen Abständen erscheinenden Verdickungen und Einschnürungen wohl an das Bild eines Bambusrohres mit seiner eigentümlichen Gliederung erinnert."

Carl Fränkel nnd Richard Pfeiffer (19) äussern sich folgendermassen über die morphologischen Verhältnisse des Milzbrandbacillus:

„Unter dem Einfluss der Färbung ändert sich die Gestalt der Endstücke in sehr auffallender Weise. Die Zellen verdicken sich kolbig, zeigen eine leichte, aber deutliche Anschwellung, die dann an der kurzen, dem nächstfolgenden Stäbchen zugekehrten Seite plötzlich mit scharfer Kante in eine flache Vertiefung, eine seichte Grube übergeht. Die Bildung der Enden erinnert daher lebhaft an die Gestalt, welche uns von dem oberen Stück des Radius, von dem Aussehen seiner Gelenkverbindung mit dem Oberarmknochen her wohlbekannt ist und dort, wo zwei Stäbchen aneinanderstossen, entstehen auf diese Weise spaltförmige oder bikonvexe Zwischenräume, welche von der Färbung unberührt bleiben und sich ohne weiteres kenntlich machen. Sind mehrere Zellen zu einem kurzen Verbande zusammengetreten, so hat das Bild, welches dieselben im gefärbten Präparate darbieten, durch die in regelmässigen Abständen wiederkehrenden Verdickungen und Einschnürungen entschiedene Aehnlichkeit mit einem Bambusrohre."

Kitt (20) sagt hierüber:

„Was man gewöhnlich Milzbrandbazillen nennt, sind Verbände von Zellen; die Gebilde, welche als gerade, teilweise leicht gebogene oder scharf abgeknickte Stäbe den Organismus vorstellen, bestehen aus zwei, drei, fünf und noch mehr Gliedern, was bei genauem Zusehen an dem Vorhandensein leichter Querstreifung erkennbar ist. Das einzelne Glied, resp. die einzelne Bakterienzelle ist, worauf Lüpke zuerst aufmerksam machte, nur 1,5—2,0 μ lang, übertrifft also entweder gar nicht oder um ein geringes den Querdurchmesser, welcher 1,25—1,5 μ beträgt; teilweise

sind die Glieder wohl auch 2 bis 4 μ lang, was aber eventuell nur scheinbar der Fall, insofern die Septierung zwischen zwei Gliedern das eine oder andere Mal undeutlich bleiben kann. Man trifft die erwähnten kurzen Teilstücke, also die eigentlichen Bakterienzellen, auch isoliert in den Blutproben; je nachdem weniger oder mehr solcher Glieder sich vereinen, wird das Stäbchen dann kürzer oder länger, im Ganzen 1—5 mal solang, als ein Blutkörperchen Durchmesser hat (5—10—20 μ). Die Endfläche jedes Gliedes erscheint etwas kolbig verbreitert und in der Mitte flach vertieft; daher kommt es, dass da, wo Glieder zusammenstossen, die Endflächen an den Rändern sich berühren und in der Mitte eine Lichtung von dieser ⊂⊃ Form freilassen. Fränkel hat diese zur präzisen Erkennung der Milzbrandbazillen sehr wichtige Gestaltung, welche am frischen, ungefärbten Präparat der Beobachtung entgeht, mit der Form einer Gelenkpfanne und die zum Stäbchen formierte Gliederkette mit einem Bambusrohr treffend verglichen."

Carl Günther (21) gibt folgende Formbeschreibung des Milzbrandbacillus: „Die einzelnen Stäbchen haben scharf abgeschnittene Enden, die Endflächen sind ganz wenig concav eingezogen, sodass in den Fällen zwischen zusammenstossenden Enden je zweier Stäbchen eine Trennungsstelle entsteht, die eine kleine Anschwellung in der Mitte besitzt. Dies Verhalten ist dem Milzbrandbacillus durchaus eigentümlich. Es unterscheidet ihn schon morphologisch von anderen, im Uebrigen ähnlich gestalteten Bakterienarten. Diese eigentümliche Gliederung der Milzbrandbazillenfäden kommt aber nur bei einer gewissen Färbungsbehandlung zum Ausdruck.

Noch eines Aufsatzes von Lüpke (22) möchte ich an dieser Stelle Erwähnung thun, da er sich mit der begrifflichen Auffassung vom Milzbrandstäbchen und seinen Massverhältnissen beschäftigt und somit zur Lehre von der Gestalt des Milzbrandbacillus Beziehung hat. Lüpke nimmt darin Anstoss an der Thatsache, dass betreffs des Längenmasses die Angaben der Autoren und Lehrbücher so weit von einander abweichen. Er behauptet auf Grund seiner Beobachtungen an gefärbten Präparaten, dass die Milzbrandstäbchen der Autoren aus lauter kleinen selbständigen Segmenten, den Gliedern der Milzbrandstäbchen älterer Deutung, bestehen, deren Länge nur zwischen engen Grenzen schwankt. Diese Segmente, von denen jedes eine Dauerspore erzeugen kann, hält Lüpke für die einfache Milzbrandbakterienzelle und will daher, dass man die Längenmasse des Milzbrandbacillus fortan auf sie beziehe. Er bemisst demgemäss die

Grösse des Milzbrandbacillus auf 1—2,5 μ, alle grösseren Stäbchen beurteilt er als eine Kolonie mehrerer Individuen, die noch nicht sinnfällig von einander getrennt sind. Diese Auffassung hat Anklang und Anerkennung gefunden z. B. von Kitt (s. o.), Johne, Abel u. a. Ferner hat Lüpke's Erörterung der Frage von der Morphologie des Milzbrandbacillus einen neuen Impuls gegeben und ist dadurch auch die indirekte Ursache zur Entstehung dieser Arbeit geworden.

Ehe ich auf den dritten Teil litterarischer Erzeugnisse über den Milzbrandbacillus übergehe, halte ich es für angebracht, vorher in kurzen Zügen den allgemeinen Aufbau der Bakterien nach dem heutigen Stande des bakteriologischen Wissens anzuführen: An jeder Bakterienzelle sind zwei Teile zu unterscheiden, ein Inhalt und eine Membran. Der erstere, der sogen. Protoplasmakörper, ist „nach den jetzt geltenden Anschauungen mit grosser Wahrscheinlichkeit als Kern“ (21) aufzufassen. Gewöhnlich homogen, lässt er zuweilen eine feine Körnung nachweisen. Anilinfarbstoffen gegenüber zeigt er sich sehr zugänglich. Den Protoplasmakörper umgiebt die Membran oder die Zellhaut. Ihr legt sich eine Hülle oder eine Art Kapsel an, welche mit der Eigenschaft ausgestattet ist, bei Zusatz von Wasser aufzuquellen und damit in einen schleimigen, gallertigen Zustand überzugehen. Nach De Bary (Vorlesungen über Bakterien. Leipzig 1887. p. 5) stellt die Zellhaut demnach nur „die feste, innerste Schicht einer gelatinösen Hülle“ dar, welche den Protoplasmakörper umgiebt.

Diese an die Membran sich unmittelbar anschliessende, quellbare Aussenzone kann in verschiedener Ausdehnung vorhanden sein. Günther (21) äussert sich darüber mit den Worten: „während diese meist nur eine geringe Ausdehnung besitzt und uns nicht besonders auffällt, erreicht sie in anderen Fällen eine im Vergleich zu dem Protoplasmakörper sehr erhebliche Ausdehnung. Man spricht dann von Kapselbakterien (Glöococcus).“ Als Hauptrepräsentanten dieser Art von Bakterien wären der Friedländer'sche und Fränkel'sche Pneumoniemikrococcus, Mikrococcus ascoformans und tetragenus u. a. anzuführen.

Von Arbeiten, welche sich mit der inneren Einrichtung des Milzbrandbacillus befassen, sind folgende zu verzeichnen:

Bender (10) spricht sich über den Inhalt des ungefärbten Milzbrandbacillus dahin aus, dass derselbe homogen erscheint. Indessen war es ihm möglich, bei sehr günstigem Lichte eine leichte Längsstreifung zu erkennen.

Bollinger's (1) Aeusserung lautet:

„Durch dieselbe Methode (nämlich durch Aufquellen mit Wasser und nachherige Eintrocknung) lässt sich auch häufig eine Differenzierung des Inhaltes nachweisen: in dem blass kontourierten Körper sieht man dann einen dunklen Inhalt, das geronnene Plasma. Im frischen Bacterium fehlt dagegen eine solche Differenzierung zwischen Plasma und Hülle vollkommen." (p. 72.)

Zu dieser Beschreibung giebt er eine lithographierte Tafel I, auf welcher man in Figur 2 an verschiedenen Stäben in deutlicher Weise die angeführten Verhältnisse zu sehen bekommt.

F. Cohn (23) vermochte eine Sonderung des Inhalts in stärker lichtbrechende Tröpfchen nur bei abgestorbenen und im Präparat aufbewahrten Stäbchen wahrzunehmen.

Koch (24) konnte an frischen und in kräftigem Wachstum befindlichen Bacillen immer einen homogenen, glashellen Inhalt erkennen. In den absterbenden Bazillen trat als erstes Symptom eine Trennung des Inhalts und eine Sonderung desselben in kürzere Abteilungen ein.

Buchner (25) will im Inhalt eigentümlich blasse Körper gesehen haben.

Ernst (26) vermochte bei Milzbrandbazillen keine sogen. „sporogene Körner" nachzuweisen, die sich als blauschwarzgefärbte Elemente deutlich von dem braunen Inhalt bei gewisser Kontrastfärbung abheben sollen. Das Vorhandensein konnte er jedoch in verschiedenen Stäbchenbakterien nachweisen. Lutz (27) konstatierte indessen die Anwesenheit derselben auch bei den Milzbrandbazillen.

Schottelius (28) nahm an den Milzbrandbazillen wahr, dass sie sich in 3 deutlich von einander abgegrenzte Schichten optisch zerlegen lassen, nämlich zunächst in eine äussere homogene und ganz farblose Hülle; darauf folgt, scharf abgegrenzt, eine hellgraue, ebenfalls fast homogene Zone und schliesslich im Zentrum, der Längsachse des Bacillus folgend, erkennt man einen feinen, dunklen Streifen, der sich etwa ausnimmt, wie der Achsenzylinder in der Markscheide einer Nervenfaser, nur mit dem Unterschiede, dass dieser hier in Rede stehende Faden nicht ganz die Länge des Bacillus besitzt, sondern vorn und hinten von einer Schicht der ihn umgebenden zweiten Zone eingehüllt wird.

Ueber die ungefärbten, in Gelatine oder klarer Agarlösung untersuchten Bazillen schreibt er (28. p. 707) wörtlich:

„Durch die Differenz des Lichtbrechungsvermögens zwischen Gelatine resp. der Agarlösung und der Aussen-

schicht der Bacillen wird letztere sehr deutlich hervorgehoben, sodass die Milzbrandbazillen von einer nach aussen und innen scharf abgegrenzten Kapsel umschlossen erscheinen, welche zwar nicht die Dicke der Hülle des Tetragenus, der Rhinosklerom- oder Pneumokokken besitzt, übrigens aber kaum weniger prägnant hervortritt."

Den in der Längsachse gelegenen Faden nennt er Kern. Durch $^1/_4$—$^1/_2$ Minute lang dauernde Färbung mit wässeriger Gentianaviolettlösung*) sollen sich die Verhältnisse auch gefärbt darstellen lassen. Man erkennt sodann Kapsel, Protoplasmakörper und Kern. Nur frische, lebenskräftige Individuen zeigen diese Erscheinungen.

Serafini (29) gelang es, nach der von Friedländer für die Färbung der Kapsel seines Pneumococcus angegebenen Methode an den Milzbrandbazillen eine Hülle zur Darstellung zu bringen. Sie fehlte künstlichen Nährsubstraten entnommenen Bazillen. An auf diese Weise hergestellten Bazillen „grenzt sich die weniger stark gefärbte Hülle alsdann — freilich mit nicht ganz scharfer Grenze — von den intensiv gefärbten, an den Enden abgerundeten Stäbchen ab." Ob Gallertmasse, wie beim Pneumoniecoccus, die Kapsel bildet, lässt er unentschieden.

Chronologisch würde auf diese Arbeit diejenige von Carl Fränkel (18) folgen, die, wie an früherer Stelle erwähnt, den Milzbrandbacillus in einen Kern mit Protoplasmaleib differenziert erscheinen lässt.

Pane (30) erwähnt über die Milzbrandbacillen, dass sie im Blutserum des Hundes knotige, bambusrohrartige Gestalt annehmen. Dabei waren dieselben von einer Kapsel umgeben. Wurden grössere Stäbchenmengen in das Serum gebracht, so trat diese Form schon nach 8 Stunden auf. Nach etwa 30 Stunden begannen dieselben aber wieder zu verschwinden, worauf die alte Form der Stäbchen an ihre Stelle trat.

Sjöbring (31), der unter anderen Bakterien auch den Milzbrandbacillus in Bezug auf seine Strukturverhältnisse prüfte, glaubt, dass sich im Bakterienkörper, wie in anderen Zellen, zwei Bestandteile, Kern und Zellleib, nachweisen lassen, die jedoch nicht immer streng von einander geschieden sind.

Fränkel und Pfeiffer (19. Tafel XVII unten) sagen wörtlich folgendes:

„Wir sprachen bei der Erklärung der besonderen Gestalt, welche die Enden der Milzbrandbazillen im gefärbten

*) Den Konzentrationsgrad giebt Schottelius nicht an.

Präparate zeigen, von der Membran der Zellen. Dass eine solche in der That vorhanden, wird häufig dadurch sehr deutlich, dass sich um die Stäbchen ein eigentümlicher Hof, eine Art Kapsel kenntlich macht, welche den gefärbten Bacillus, den „Kern", als schwächer oder gar nicht gefärbte Zone in näherem oder weiterem Abstande umschliesst."

Weichselbaum (32) führt an:

„In gefärbten Präparaten von Gewebssäften oder von Blut kann man ferner nicht selten eine kapselähnliche Hülle wahrnehmen, die nach Tinktion mit Methylenblau leicht violett oder rosa erscheint, während das Protoplasma des Stäbchens selbst sich stark blau färbt."

Nach Alexander-Lewin (33) soll sich an den im Gewebe neu entstandenen Bazillen vom zweiten Tage ab eine eigentümlich schleimige Degeneration der peripheren Partieen geltend machen, die vielleicht analog der Kapselbildung ist.

Günther (21) konnte an den Milzbrandbazillen eine Hülle und einen Kern konstatieren, wenn auch nicht in allen Fällen.

Johne (34) führt aus, dass er durch an Deckglaspräparaten gemachte Beobachtungen zu der Ueberzeugung geführt wurde, „dass die Form des Milzbrandbacillus bisher durchaus unzutreffend und unzureichend beschrieben worden ist," und dass von den 3 morphologischen Eigentümlichkeiten der Milzbrandbazillen, nämlich der, im gefärbten und ungefärbten Zustand, bestimmten Grösse, der kolbigen Verdickung der Enden der einzelnen Bakterienzellen und schliesslich der ⊃förmigen, ungefärbten Lücke zwischen je 2 Bacillen „thatsächlich nur die erste wirklich" vorhanden ist. Durch ein von ihm angegebenes, im Laufe der Arbeit angeführtes Färbeverfahren gestalten sich nach Johne die morphologischen Verhältnisse an den Milzbrandbazillen in nachstehender Weise:

„1) Bei einer Vergrösserung von ca. 420 mal (Zeiss Obj. D, Oc. 4) ist die Zusammensetzung der Milzbrandbazillen aus einzelnen Bakterienzellen bereits mit ziemlicher Schärfe sichtbar. Die Endflächen der letzteren erscheinen bei dieser Vergrösserung rechtwinklig abgestutzt und mehr oder weniger gerade; sie berühren sich aber nicht an ihren Rändern, sondern sind vollständig von einander getrennt. Die ungefärbten Zwischenräume zwischen je zwei Bakterienzellen sind mehr oder weniger rechteckig, nicht biconcav (⊂⊃), und niemals ist eine kolbige Anschwellung der Enden der einzelnen Bakterienzellen als konstante morphologische Eigentümlichkeit zu bemerken. Wo eine solche vorhanden,

ist sie nur eine scheinbare, durch bevorstehende Teilungsvorgänge bedingte.

2) Bei einer Vergrösserung von 925 mal (Zeiss, homog. Immers. $^1/_{12}$, Oc. 4) ändert sich das Bild insofern als die Endflächen der einzelnen Bakterienzellen nicht mehr rechtwinklig abgestutzt, sondern leicht abgerundet, flach convex erscheinen. Die von allen oben angeführten Autoren von Rob. Koch an beschriebenen biconvexen (⌓), ungefärbten Lücken zwischen den Bakterienzellen, sowie die kolbigen oder knotigen Endanschwellungen derselben, sind auch bei dieser Vergrösserung weder in den Präparaten, noch in den Photogrammen auf Tafel VI, Figur 3 wahrzunehmen. Die Gliederung der Milzbrandbazillen ist bei dieser Vergrösserung natürlich noch deutlicher und schärfer erkennbar, als wie bei der oben bezeichneten schwächeren.“

Nach Johne sollen die Milzbrandbazillen die Eigenschaft besitzen, „an ihrer Oberfläche durch Vergallertung der Membran eine gallert- bezw. schleimartige Hülle, eine Art Kapsel zu bilden“, welche durch das Johne'sche Färbeverfahren „als ein an allen Bazillen gleichgeformter, schmaler, scharf begrenzter und mattgefärbter Hof“ dargestellt werden kann. Diese Eigenschaft kommt aber nur den Bazillen aus dem Blut oder Gewebssaft von an Milzbrand verendeten Tieren zu, während aus künstlichen Nährböden stammenden Präparaten, ähnlich wie bei dem Micrococcus tetragenus und ascoformans, sowie dem Friedländer'schen Pneumoniebacterium, diese Eigenschaft abgeht.

In diesem 2. Abschnitte der Arbeit lasse ich die von mir angestellten Versuche folgen und gebe auf Grund derselben meine Auffassung von der Frage der Morphologie des Milzbrandbacillus. Weiterhin gelangen darin die Verfahren für die Sichtbarmachung der Differenzierung der einzelnen Teile des Milzbrandbacillus zur Anführung. Dieselben wurden ebenfalls auf die vorgenommenen Versuche gegründet, aus denen sie sich ungezwungen herausbilden liessen.

Ich schicke vorauf, dass die Anordnung der Versuche nicht in der hier niedergelegten Weise geschah, jedoch hielt ich diese Reihenfolge wegen der Uebersichtlichkeit für erforderlich. Den Gedankengang, welcher bei der Unternehmung der Versuche leitend war, habe ich im 7. Versuche ausführlich angegeben.

Die Versuche wurden beinahe ausschliesslich an von Impftieren stammenden Präparaten vorgenommen. Zur Verwendung gelangten weisse Mäuse. Die Untersuchung geschah mit einem Zeiss'schen Instrumente. Wo nicht anders angegeben, fanden die Untersuchungen bei 1000facher Vergrösserung (Zeiss Compensationsocular 8 mit Apochromat-Objectiv 2 mm) statt.

Die oftmalige Wiederholung der Versuche ergab beständige Kontrole derselben. Es sei noch besonders darauf hingewiesen, dass für die richtige Erkenntnis der bestehenden morphologischen Verhältnisse des Milzbrandbacillus ein richtiger, sachverständiger Gebrauch des Beleuchtungsapparates unbedingtes Erfordernis ist. Es soll der Grundsatz gelten, „je genauer den Verhältnissen angepasst die gebrauchte Lichtmenge ist, um so deutlicher werden die Strukturverhältnisse zu erkennen sein." Weiterhin möge nicht unerwähnt bleiben, dass für die richtige Vorstellung der Einrichtung des doch ziemlich kräftigen, als Körper von 3 Dimensionen aufzufassenden Milzbrandbacillus, das abwechslungsweise hohe und tiefe Einstellen mit der Mikrometerschraube von ganz wesentlicher Bedeutung ist. Wie die Einstellung zu erfolgen hat, habe ich im Texte der Versuche angegeben.

Nach diesen mir wichtig dünkenden Sätzen gehe ich zur Ausführung dieses Abschnittes über.

1. Versuch.

Erscheinungen beim frischen und austrocknenden Milzbrandbacillus.

Von der Milzpulpa einer frisch an Impfmilzbrand verendeten Maus tupfen wir ohne Auszustreichen ein wenig auf ein Deckglas und bringen dasselbe so rasch wie möglich ohne jegliche Zusatzflüssigkeit auf dem Objektträger zur Untersuchung, wobei das durch das aufgeträufelte Cedernöl bedingte Anhaften des Deckglases an das Immersionssystem durch seitliches Auflegen zweier Bleikugeln leicht vermieden werden kann. Unterziehen wir bei diesen Verhältnissen einen Milzbrandstab, der so liegt, dass er in seiner ganzen Ausdehnung zu gleicher Zeit sichtbar ist, — es ist dieses bei der Unmenge der in der Milzpulpa suspendierten Milzbrandbazillen nicht schwer — der scharfen Betrachtung seiner

Formeigentümlichkeiten, so lässt sich an demselben folgende Gestaltung wahrnehmen: der in der Länge grossem Wechsel unterworfene Stab erscheint bei völlig geöffnetem Kondensor und reichlicher Lichtmenge als glashelles, glänzendes Gebilde, ohne dass wir uns eine genauere Vorstellung von der Formung der Enden, der Gliederung oder des Inhaltes zu machen im Stande wären. Wesentlich anders ist das Verhalten bei zweckmässigem Abblenden. Die Enden der Stäbe sind halbkugelig abgerundet, ohne Verdickung oder kolbige Auftreibung, wobei es ganz gleichgültig ist, ob sie einzeln liegen oder als Glieder zu grösseren Verbänden aneinander gereiht sind. Der Zusammenhalt jener Glieder ist ein ziemlich loser, sodass es den Anschein hat, als seien dieselben ganz von einander getrennt und man habe es mit vollkommen abgeschiedenen Exemplaren zu thun. Ein derartiges Glied ist keineswegs homogen, es lassen sich vielmehr deutlich 3 durch Farbedifferenz ausgezeichnete Schichten erkennen. Auf eine äussere dunkelgraue, schmale, nirgends eingezogene oder eingekerbte Schicht folgt nach innenhin eine breitere und hellere, welche wiederum einen dunkeln, ungetheilten, die Enden des Gliedes nicht ganz erreichenden Körper umschliesst. Weiterhin bemerken wir Stäbe, bei denen eine Querteilung unvollständig ist. In diesem Falle deucht uns die Gliederkette als ein Verband, welcher in ziemlich regelmässigen Abständen mit oberflächlichen oder tiefen Einkerbungen versehen ist. Der innerste Körper ist an diesen Stellen unterbrochen.

Je nach dem Saftreichtum der verwendeten Milzpulpa bleibt dieses Bild verschieden lange, oft mehrere Stunden, unverändert bestehen. Nur eine Schrumpfung im Längs- und Querdurchmesser macht sich allmählich geltend, die am stärksten hervortritt, wenn die Masse vollkommen trocken geworden ist. Dieser Vorgang lässt sich deutlich verfolgen und durch Mass und Zahl ausdrücken. Sichtlich nimmt nebenher die Rundung der Enden ab, um einer mehr breitgedrückten, flachkugeligen Gestaltung derselben Platz zu machen. Auch dieser Vorgang ist bei einer Gegenüberstellung zwischen den Stäbchenenden der Milzbrandbazillen der frischen und trockenen Milzpulpa in die Augen springend.

Keineswegs sind aber hiemit die Wandlungen am Milzbrandbacillus zum Abschlusse gelangt; es schliessen sich vielmehr noch höchst eigentümliche Gestaltungsvorgänge an. In kürzerer oder längerer Zeit (sehr bald bei leichtem Ausstreichen der Milzpulpa) treten in ziemlich regelmässigen Entfernungen helle, mitunter stark licht-

brechende, rundliche Stellen im Innern der Glieder[1]) und eine hellere Partie an den Enden derselben auf. Sodann werden die im Innern gelegenen Stellen in die Länge gezogen und spalten sich schliesslich in 2 Teile, wobei nachher die Teile entweder dicht aneinander stossen oder merklich von einander abstehen. Die hellere Partie am Gliedende hat sich fast zur gleichen Zeit von der Aussenschicht abgehoben und auch an der Längsseite des Gliedes hat ein Zurückziehen des Inhaltes Platz gegriffen. Jedesmal tritt eine durchgehende Spaltung der hellen Stellen nicht ein, sondern sie bleiben mitunter kreisrund, dann und wann erscheinen sie langgezogen, mit verschieden stark ausgeprägter Einziehung an der Längsseite.

Aus dem geschilderten Vorgange ist ein wesentlicher Unterschied zwischen dem frischen und angetrockneten Milzbrandbacillus ersichtlich.

Im nachstehenden lasse ich die Beschreibung des angetrockneten, ungefärbten Milzbrandbacillus folgen. Dabei ist genau in Rücksicht gezogen, wie sich die morphologischen Verhältnisse desselben bei hoher und tiefer Einstellung des Bildes darbieten.

Der Milzbrandbacillus ist bei gewöhnlicher Einstellung scheinbar kurz gegliedert, indem in annähernd gleichen Abständen eine ziemlich starke, graue Aussenschicht ringförmige, verschieden tiefgehende Einkerbungen zeigt. Nach innen folgt eine ganz schmale, helle Zone, welche wiederum ein feines, in der Längsachse gelegenes, dunkelgraues Stäbchen umschliesst, und welche an den Enden des Gliedes kräftiger entwickelt ist und hier mitunter sehr hell erscheint. Die Enden desselben sind flachgewölbt. Stellen wir ein wenig tiefer ein, so verschwindet alsbald das Stäbchen, wogegen die Aussenschicht an Breite zunimmt. Nach einer noch tiefern Senkung des Tubus ändert sich bei erhaltener, völliger Schärfe des Bildes die Gestalt. Wir bemerken eine kräftige, aussen scharf contourierte, eingekerbte Hülle resp. Aussenschicht und in ihr abgesetzte, leicht contourierte, hellere, entweder deutlich getrennte oder noch zusammenhängende, an den Enden flach convexe Segmente. Vielfach zeigt derselbe verbreiterte Gliederenden; es schliesst sich in der Mitte der Glieder die Aussenschicht näher an das Segment an. Schema und Figur 1, 2, 3, 4 auf Tafel I.

---

[1]) Bei schwächerem Auflösungsvermögen eines Seibert'schen Instrumentes erschienen dieselben wie lichtbrechende Tröpfchen oder Kügelchen.

Es sei am Schlusse dieses Versuches darauf hingewiesen, dass diese Gestaltveränderung des Milzbrandbacillus bei der gewöhnlichen Anfertigung von Deckglaspräparaten ausserordentlich rasch eintritt.

2. Versuch.

Erscheinungen bei Zusatz von Wasser.

Ein gut lufttrockenes Präparat, welches aus der Milzpulpa eines nicht zu lange liegenden Tieres stammt, wird in der bei Versuch Nr. 1 angegebenen Weise zur Untersuchung gebracht. Bei der Mehrzahl der durch die Austrocknung veränderten Milzbrandbazillen fällt die Kürze, bedingt durch das mechanische Abtrennen von Gliedern beim Ausstreichen, auf. Unter genauer Festhaltung des Bildes bei tiefer Einstellung („breite Hülle und Segmente" Versuch Nr. 1) lassen wir von der einen Seite her destilliertes Wasser einfliessen, wobei dasselbe nach Bedarf mittelst an entgegengesetzter Seite angebrachtem Fliesspapier zwischen Objektträger und Deckglas hindurchgezogen wird. Dadurch hellt sich der Milzbrandbacillus auf unter gleichzeitiger Quellung der Aussenschicht und, wie es scheint, auch der Segmente. Von einer Verbreiterung des Stabes in Höhe der Segmentation kann nichts mehr wahrgenommen werden; im übrigen ist die Zusammensetzung des Stabes dieselbe. Bei Anwendung von nicht vollkommen lufttrockenen Präparaten findet mitunter ein Abweichen statt. Die Segmente sind als nicht contourierter, kräftiger, dunkler Körper, umschlossen von einer breiten, hellen, eingekerbten, contourierten Aussenschicht, sichtbar. Dabei ist dieser Körper entweder gar nicht geteilt oder das Geteiltsein nur äusserst schwer erkenntlich. Dass indessen dieser Körper aus Segmenten besteht, erhält durch den folgenden Versuch seine Bestätigung. Noch sei erwähnt, dass das letztere Bild auch an länger liegenden Präparaten bei der Einwirkung des Wassers zu beobachten ist.

3. Versuch.

Erscheinungen bei Zusatz von Farbelösungen.

Auf ein gut lufttrockenes Präparat lassen wir zuerst Wasser und nachher bei derselben Einstellung des Bildes, wie in Versuch Nr. 1, eine stark verdünnte, wässerige

Fuchsinlösung durch langsames Einfliessen zwischen Objektträger und Deckglas einwirken. Hiermit können wir die Empfindlichkeit der einzelnen Teile des Milzbrandbacillus für den Farbstoff genau prüfen, ohne eine Ueberfärbung vorhandener Detaile befürchten zu müssen. Dabei lässt sich folgendes konstatieren: Zuerst schärfere Ausprägung des Bildes, indem jedenfalls Spuren des Farbstoffes in die Teile eingedrungen sind, alsdann beim Näherrücken der Farbe in sichtbarer Menge nehmen in erster Linie der äussere Kontour und die Kontouren der Segmente den Farbstoff auf; nächstdem füllen sich die Segmente mit Farbe; schliesslich folgt der Teil zwischen äusserer Kontourlinie und den Segmenten, — wobei dieser ungleich schwächer gefärbt wird, also der Farbe gegenüber sich wesentlich anders verhält, wie die Segmente. Diesen letzten Teil vermag die Farbe nicht derartig zu durchtränken, dass eine Differenzierung der Schichten des Milzbrandbacillus nicht mehr sinnfällig wäre. Nach Entfernung der überschüssigen Farbe mittelst Durchziehen von Wasser zwischen Objektträger und Deckglas sind die Bestandteile des Milzbrandbacillus deutlich differenziert; aussen dunkelrote Kontourlinie, dann schwachrötliche Schichte, innen kräftig gefärbte, flach abgerundete Segmente. Die Enden des Stabes mehr oder weniger flachgewölbt. Tafel II Fig. 5 und 6. Der Teil zwischen 2 Segmenten ist entschieden heller bezw. gar nicht gefärbt, eine Thatsache, die noch auffallender bei schwächerer Vergrösserung (Kompensationsocular 4) wird.

Erhalten wir bei Wasserzusatz das andere Bild („helle Aussenschicht mit Kontour und dunkler Körper“ Versuch Nr. 2) und lassen Farbe einfliessen, so färben sich Kontourlinie und dunkler Körper fast zu gleicher Zeit. Ausserdem teilt sich dieser Körper in Segmente, sodass das Endresultat dasselbe, wie vorhin, ist. In diesem Falle, wo wir nach der Einwirkung des Wassers keine Segmente sehen, könnte der Gedanke erweckt werden, als seien nach vollzogener Färbung die sattgefärbten Teile des differenzierten Milzbrandbacillus gar nicht identisch mit den Segmenten des Trockenpräparates. Die Ueberzeugung davon, dass dem so ist, werden wir indessen gar bald gewinnen, sobald wir bei öfterer Recapitulation des Versuchs Milzbrandbacillen mit verschiedener Anzahl von Segmenten unter dem Mikroskop einstellen, uns Zahl und Form derselben merken und dann nach dem Einfliessen des Farbstoffes die Verhältnisse vergleichen.

Bei Verwendung einer konzentrirteren Farbstofflösung z. B. 1% oder 2% Gentianaviolettlösung spielt sich derselbe Vorgang ab. Diese Lösung vermag aber den zwischen Kontourlinie und Segmenten gelegenen Teil, sowie die helle Stelle zwischen 2 aneinander stossenden Segmenten zu imprägnieren, sodass alsdann der Milzbrandbacillus als gleichmässig satt gefärbter Körper erscheint. Zuerst färbt sich jener Teil, hernach die Stelle zwischen 2 Segmenten. Zugleich aber macht sich ein Zusammenziehen der Aussenschicht und eine nähere Anlagerung derselben an die Segmente — vorauf geht mitunter eine deutliche Ausdehnung derselben[1]) — bemerkbar. Oftmals bleibt eine Verbreiterung in Höhe der Segmente (Fränkel's Bambusrohr).

Lassen wir ein Tröpfchen konzentrierte Farbstofflösung unter das Deckglas fliessen, sodass nur etwa die Hälfte des Ausstriches gefärbt wird, und ziehen sodann von der der einfliessenden Farbe entgegengesetzten Seite Wasser durch, so weisen die einzelnen Partieen sämmtliche Uebergänge der Färbung (ungefärbt bis satt gefärbt) auf.

4. Versuch.

Erscheinungen bei Zusatz von Farbelösungen ohne vorherige Einwirkung von Wasser.

Bei diesem Verfahren sind die Vorgänge schwer zu beobachten, weil die Bazillen vor der Aufnahme des Farbstoffs regelmässig durch das Wasser der Lösung in den bekannten Quellungszustand (Versuch Nro. 2) übergehen. Indessen führe ich den Versuch an, weil bei richtig gewählter Konzentration der Farbe (am besten schwache Fuchsinlösung) und bei gelungenem Einfliessenlassen derselben das im Innern der Segmente gelegene Stäbchen in erster Linie sich dem Farbstoff gegenüber zugänglich erweist. Die Einstellung desselben geschieht wie in Versuch Nr. 1 angegeben. Zu diesem Versuche wählen wir einen Milzbrandstab, dessen Segmentenden sehr hell sich darbieten. Diese hellen Stellen im Auge behaltend, werden wir uns unschwer von der Richtigkeit des Gesagten überzeugen können. Der gefärbte Teil wird hernach breiter, indem direkt die Färbung der Segmente nachfolgt. Es scheinen sich die letzteren dabei zuerst etwas auszudehnen, um darauf wiederum durch den Farbstoff kontrahiert zu werden. Die weiteren Wirkungen der Farbe sind ver-

[1]) Des öfteren zu konstatieren bei Färbung mit Vesuvin.

schwommen, indessen darf der berechtigte Schluss gezogen werden, dass diesen Vorgängen die Tinktion der übrigen Teile sich anreiht. Ein kleiner Versuch, mit dem ich späteren Versuchen vorgreife, ist geeignet, den gezogenen Schluss als richtig erscheinen zu lassen. Verschiedene Farbstoffe durchprobierend, fand ich, dass an dem Methylenblau (1 g Methylenblau, 10 g Alkohol absol., 100 g Wasser) eine besondere Affinität zu den Segmenten bei kurzer Einwirkung auffällig war. Beim Zufliessen dieses Farbstoffes färbten sich Kernstäbchen und Segmente, während die übrigen Teile längere Zeit ungefärbt blieben. Bei dem nachfolgenden Einbringen einer gleichartig zusammengesetzten Fuchsinlösung färbten sich auch die letzteren. Beide Farbstofflösungen habe ich zu einer später erwähnten Doppelfärbung des Milzbrandbacillus verwendet.

5. Versuch.

Die Wirkung der Essigsäure auf gefärbte Milzbrandbazillen.

Auf lufttrockene Ausstrichpräparate, welche 20 bis höchstens 30 Sekunden mit einer 2 % Gentianaviolettlösung gefärbt waren, liess ich eine 1 % Essigsäurelösung durch Zufliessen einwirken. Zur Verwendung gelangten erst ziemlich kurze Zeit lufttrockene Präparate, weil diese sich dem Farbstoff gegenüber in allen Teilen rasch zugänglich erweisen, so dass von einer Differenzierung der Teile des Milzbrandbacillus nichts zu sehen ist. Ich möchte anführen, dass es mir selbst in satt gefärbten Präparaten möglich ist, im Innern der Stäbe stets einen intensiver gefärbten Inhalt zu erkennen. Es ist wie ein Vexierbild, das man, hat man einmal das versteckte, neckende Bild wahrgenommen, mit dem besten Willen nicht mehr los werden kann. Bei dem Versuche ist ein rasches Durchziehen der Essigsäure mittelst auf der entgegengesetzten Seite angebrachtem Fliesspapier wegen der sich von den Bazillen lösenden Farbe unumgänglich notwendig. Dieses Experiment brachte den Nachweis, dass sich die Aussenzone schnell entfärbt, Kontourlinie und Segmente nur um weniges länger Stand halten, um nachher ebenfalls rasch abzublassen. Eine Quellung dieser Aussenschicht war nicht zu konstatieren. Nach der Extraktion der Essigsäure mittelst Wasser und nach wiederholtem Zufliessen von Farbe nehmen die Teile die letztere noch ziemlich gut, wenn auch nicht mit der ursprünglichen Energie, auf.

Mit der Anführung der über die morphologischen Verhältnisse des Milzbrandbacillus angestellten Versuche möge hiermit vorläufig abgeschlossen sein. Zur Genüge dürfte aus den erwähnten Versuchen, wie aus den Angaben der Litteratur, resultieren, dass unter gewissen Umständen der Milzbrandbacillus in wechselnder Gestalt mikroskopisch sich darbietet. Für den „ungefärbten, frischen" Milzbrandbacillus, ohne Anwendung bestimmter Zusatzflüssigkeiten, gehen die Beschreibungen fast sämmtlich dahin, dass der Inhalt desselben homogen ist. Bender konnte eine leichte Längsstreifung, Buchner blasse Körner wahrnehmen. Beim absterbenden Milzbrandbacillus sah Cohn Sonderung des Inhalts in lichtbrechende Tröpfchen, Koch Trennung desselben in kürzere Abteilungen. Durch Anwendung von destilliertem Wasser, gewissen Farbstoffen oder bestimmten Färbeverfahren wurde von verschiedenen Seiten (Bollinger, Schottelius u. a.) eine Differenzierung des Milzbrandbacillus zur Darstellung gebracht. Dabei ist aber in der Benennung der Teile eine grosse Variation bemerkbar.

Bei der Vornahme meiner Versuche, bei welchen in zweckmässiger Weise die nutzbaren Mittel zur Verwendung gelangten, konnte auch ich eine Differenzierung des Milzbrandbacillus in Augenschein nehmen. Mit den Untersuchungen beinahe zu Ende, konnten mich die Worte Kitt's (35) „bei der Heranziehung der Meinungsdifferenz, ob der gefärbte Teil eine Art Kern oder die ganze Bakterienzelle ist, die sogenannte Kapsel nicht zugehört oder membranöser Bestandteil der Zelle ist, würde man zu keinem Ende kommen" nur aufmuntern. Von der Hoffnung erfüllt, es seien die Schlüsse aus den sorgfältig unternommenen Versuchen dazu angethan, Klärung zu schaffen, thue ich unter Heranziehung der bestehenden Litteraturangaben meine Ansicht über diesen Punkt in der Morphologie des Milzbrandbacillus dar.

Vorauf schicke ich die Ansichten der einzelnen Autoren. Bender spricht sich über die von ihm erwähnte Erscheinung nicht aus. Im Jahre 1872 vermochte Bollinger den Milzbrandbacillus in „Plasma und Hülle" zu differenzieren. Schottelius erwähnt eine „Kapsel, Protoplasmakörper und Kern"; Serafini eine „Hülle um die Milzbrandbazillen". Pane hält die „Bazillen von einer Kapsel" umgeben. Weichselbaum sieht den durch Methylenblau „starkgefärbten Kern als Protoplasma" des Stabes an. Alexander-Lewin glaubt die periphere Partie vielleicht einer „Kapsel" analog. Fränkel ist unzweideutig „für

einen Bakterienkern mit einem Protoplasmaleibe.“ In Verbindung mit Pfeiffer erscheint seine Ausdrucksweise weniger präzis, wenn er anführt, dass sich häufig „um die Stäbchen eine Art Kapsel“ kenntlich macht, welche „den gefärbten Bacillus“, den „Kern“, umschliesst. Günther konnte eine „Hülle und einen Kern“ konstatieren. Am ausführlichsten äussert sich Johne, der, wie angeführt, die bestehenden morphologischen Verhältnisse des Milzbrandbacillus, die uns durch Beschreibungen eines Koch, Fränkel, Pfeiffer, Baumgarten, Kitt, Günther, Flügge sozusagen in Fleisch und Blut übergegangen sind, mit Ausschluss der Grössendimensionen bestreitet. Die Erklärung dieser mit den ersten Autoren in auffallendem Widerspruch befindlichen Angaben glaubt er durch das besprochene Vorhandensein einer „Gallerthülle“ geben zu können. Wie sich dieselbe unter dem Mikroskop darstellt, wurde an anderer Stelle, auf die hiermit verwiesen sei, klargelegt. Ueber die Widersprüche gegenüber den bestehenden charakteristischen „kolbigen Enden, den dellenförmigen Vertiefungen“, wodurch „zwischen 2 aneinanderstossenden Gliedern ein ⊃förmiger, ungefärbter Raum“ entsteht, gibt Johne (l. c. p. 255) folgende Erklärung:

„Innerhalb des Organismus vermehrt sich der Milzbrandbacillus bekanntlich durch Längswachsthum und Querteilung. Jede einzelne Bakterienzelle wächst in die Länge und teilt sich dann in der Querrichtung. Jede auf diese Weise neu entstandene Bakterienzelle wächst wieder in die Länge, teilt sich wieder u. s. w. Bei dem Längswachstum der Zellen und Zellenverbände wird auch die sie umgebende Gallerthülle mit ausgedehnt und bildet unter gleichzeitiger stetiger Neuproduktion eine kapselartige Umhüllung des als Milzbrandbacillus bezeichneten Zellenverbandes in seiner ganzen Länge. Vor Eintritt der Querteilung bildet sich an jeder Bakterienzelle jederseits eine auf meinen Photogrammen an sehr vielen Bazillen deutlich bemerkbare Einziehung, wodurch einzelne Bakterienzellen in der Mitte dünner, an den Enden dicker erscheinen und hier, aber nur scheinbar, die von den oben genannten Autoren beschriebene kolbenartige Anschwellung bekommen. Die durch die Querteilung neu entstandenen Bakterienzellen rücken zwar etwas auseinander, werden aber durch die an den Seiten des Zellenverbandes befindliche, etwas zähe Gallerthülle zunächst an dem Auseinanderfallen gehindert. Infolge dieser Vorgänge entsteht zwischen je 2 Bakterienzellen eine anfänglich leere Lücke. Ob diese Lücke später durch Vergallertung der Endflächen ebenfalls mit Gallert-

masse ausgefüllt wird, oder ob dieselbe leer bleibt, wage ich nicht zu entscheiden. Ich halte das letztere für wahrscheinlicher, weil die Vergallertung der Membran beim Milzbrandbacillus und den obengenannten Mikroorganismen nur in direkter Berührung mit den tierischen Säften stattzufinden scheint."

Das Zustandekommen der charakteristischen ⊃förmigen Lücken erklärt Johne (l. c. p. 256) wie folgt:

„Bei weniger intensiver Färbung vermag der Farbstoff nicht bis in die protoplasmafreie Lücke zwischen je 2 Bakterienzellen einzudringen; er färbt nur jenen Teil der seitlichen Gallerthülle, welcher sich vom Rande her etwas in die Lücke hereindrängt. Hierdurch entsteht jene ⊃Lücke zwischen je 2 Bakterienzellen, welche seitlich von den sich scheinbar berührenden Rändern derselben begrenzt wird."

Den Aufbau anlangend, hält Johne den inneren, satt gefärbten Teil für den eigentlichen Stab, d. h. für den Milzbrandbacillus, was unzweideutig aus der Stelle p. 254 hervorgeht: „was Carl Fränkel für einen Bakterienkern anzunehmen geneigt ist, ist eben die Bakterienzelle, sein Protoplasmahof, die von mir beschriebene Gallerthülle derselben." Bei der gewöhnlichen Deckglastinktion ist nach Johne die Kapsel mitgefärbt und daher auch nicht sichtbar. „Diese Hülle ist sehr dünn" (l. c. p. 253). Bei der Einwirkung der Essigsäure gestalten sich aber die Verhältnisse ganz anders (l. c. p. 257):

„Durch das Auswaschen der Präparate in wässriger 1% Essigsäure scheint einmal die Gallerthülle zu quellen, vor Allem aber gibt sie ihren Farbstoff nahezu vollständig ab, sodass nunmehr die einzelnen Bakterienzellen deutlich ihre leicht abgerundeten (nicht ausgehöhlten, concaven) Endflächen, zwischen sich einen biconcaven (⋌), nicht biconvexen (⊃) Zwischenraum und einen an allen Bazillenverbänden gleich regelmässigen, nicht oder nur matt oder nicht gefärbten Hof zeigen, der eben nur eine gequollene Gallertkapsel, aber kein durch die so geringgradig modifizierte Färbungsmethode entstandenes Kunstprodukt sein kann."

Mit diesen Ausführungen Johne's, die „erst das Verständnis für den eigentümlichen inneren Bau der Milzbrandbazillen" ermöglichen sollen, kann ich mich nicht in allen Teilen einverstanden erklären; vielmehr glaube ich die Deutung der durch Essigsäure erzielten Differenzierung des Milzbrandbacillus und die aus diesem Färbeverfahren resultierenden Widersprüche mit den landläufigen Angaben älterer Autoren in anderer Weise geben zu müssen.

In neuerer Zeit gehen verschiedene Ansichten dahin, dass sich der Inhalt einer Bakterienzelle durchaus nicht so unveränderlich erhält, wie es nach den bisherigen Präparationsmethoden angenommen wurde. Fischer[1]) führt in seiner Arbeit aus, dass der Inhalt der Bakterienzellen durch schwache Salzlösungen angegriffen wird und offenbar auch beim Eintrocknenlassen leichte Kontraktionserscheinungen aufweist. Er hält dementsprechend die bestehende Anschauung für unhaltbar, dass der Inhalt der Bakterienzelle ein dichtes, homogenes Plasma sei und tritt der Ansicht Bütschli's[2]) gegenüber. Was dieser Autor als den Kern der Bakterienzelle ansieht, ist nach Fischer offenbar nur das zusammengezogene Plasma. Unter welchen Bedingungen retrahiert sich das Plasma? Diese Frage wurde von Buchner[3]) aufgeworfen, welcher dieselbe in folgender Weise beantwortet: „nach meinen Beobachtungen entsteht die Retraction für gewöhnlich durch das Antrocknen am Deckglas. Aber das Antrocknen ist hiezu nicht nothwendig. Auch in frischen Zufliesspräparaten zeigt es sich, wenn man eine giftige Farbe z. B. Gentiana-Violett einfliessen lässt. Schon Cohn[4]) hielt das Bakterienprotoplasma „für flexil oder, wie man gewöhnlich sagt, für kontraktil."

Ziehe ich Versuch Nro. 1 in Betracht, bei welchem ich die Pulpamasse sich selbst überliess und dementsprechend auf die Bazillen kein anderes Agens als die Luft mit ihrer austrocknenden Eigenschaft ihre Wirkung ausüben konnte, und wobei ich eine Trennung des Protoplasmas von der Aussenschicht und eine Bildung von Segmenten zu konstatieren im Stande war, so kann ich die flach abgerundeten, flach convexen Segmentbildungen als nichts anderes wie zusammengezogenes oder retrahiertes Bakterienprotoplasma ansehen. Den neuesten Untersuchungen folgend, wonach mit „hoher Wahrscheinlichkeit der Protoplasmakörper als „Kern" aufzufassen ist, dürfte diese Bezeichnung Anklang finden.

---

[1]) Fischer, die Plasmolyse der Bakterien. Bericht der Kgl. sächsischen Gesellschaft f. Wissensch. Mathem.-physiol. Cl. Sitzung vom 2. März 1891. p. 52—74.

[2]) Bütschli, über den Bau der Bakterien und verwandten Organismen. Leipzig 1890.

[3]) Buchner, über die vermeintlichen Sporen der Typhusbacillen. Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde. 1888. II. Bd. p. 353.

[4]) Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. 2. 1875. p. 136.

Es ist anzunehmen, dass diese Retraction mit dem Absterben des Milzbrandbacillus zusammenhängt. Buchner (l. c.) ist für diese Meinung. Koch (24. p. 294) konnte als erstes Symptom beim absterbenden Milzbrandbacillus eine Trennung des Inhaltes und eine Sonderung desselben in kürzere Abteilungen erkennen; „der Bacillus erscheint dann mehr oder weniger deutlich gegliedert."

Durch die Einwirkung des Wassers und der Farbe (Versuche Nro. 2—4) konnte ich mich überzeugen, dass durch die Färbung dasselbe Bild der Milzbrandbazillen, wie im ungefärbten Zustande, resultiert. Da die Bilder meiner Präparate keinen Unterschied im Aufbau der Bacillen mit denen von Johne erkennen lassen, so dürfte die von Johne für den inneren satt gefärbten Teil gebrauchte Bezeichnung „Bakterienzelle", d. h. Glied des Zellenverbandes (Milzbrandbacillus), nicht den Thatsachen entsprechen. Noch auf eine andere Weise dürfte dies bewiesen werden. In seiner Abhandlung gibt Johne auf Tafel VI in Figur 1 und 3 zwei photographische Abbildungen, welche, mit demselben Apparate angefertigt, die Milzbrandbazillen bei ein und derselben Vergrösserung zeigen. In Figur 1 sind die Bazillen nicht in ihre Bestandteile differenziert; dagegen ist eine Differenzierung in Figur 3 sehr deutlich. Bei einem Vergleiche beider Figuren stimmen die Breitendurchmesser der Bazillen in Figur 1, wobei selbstverständlich nur entsprechende Glieder gewählt werden dürfen, viel besser mit denen in Figur 3 einschliesslich der sogen. Kapsel, als ohne dieselbe. Dabei ist noch zu berücksichtigen, dass in Figur 1 die Bazillen durch die Farbe zusammengezogen sind, und in Figur 3 Quellung besteht.

Durch die Retraktion des Protoplasmakörpers ist auch der Beweis dafür gegeben, dass es sich bei der diesen umgebenden Aussensschicht nicht um eine „Gallerthülle" handeln kann, die durch Essigsäure sich entfärbt und aufquillt und dadurch sichtbar wird. Aus den Versuchen Nro. 2—4, wo Essigsäure fehlte, und aus späteren Versuchen geht hervor, dass die „Kapsel" schon im ungefärbten, trockenen Zustand vorhanden ist und einen besonderen Bestandteil des Milzbrandbacillus darstellt. Versuch Nro. 5 schliesst eine Quellung der „dünnen Hülle" aus; dagegen ist eine Entfärbung der Aussenschicht wahrzunehmen.

Die Aussenschicht möchte ich „Plasmahülle" benennen. Von „Kapsel" zu reden halte ich nicht für angebracht, weil dadurch leicht die Annahme Platz greifen könnte, als sei der Milzbrandbacillus ein Kapsel-

bacterium, ähnlich dem Micrococcus tetragenus und ascoformans, dem Friedländer'schen Kapselcoccus etc. Diese Bakterien sind von einer ungleich erheblichere Ausdehnung besitzenden Kapsel umschlossen. Bei der gewöhnlichen Färbung erweisen sich diese Kapseln wenig der Farbe zugänglich; sie haben ein eigentümlich blasses, schimmerndes Aussehen. Erst durch besondere Färbung, deren Technik einige Uebung erfordert, können sie gefärbt, veranschaulicht werden. In verdünnten Alkalien und in Wasser lösen sich die Kapseln auf; vor ihrer Färbung muss daher ein Zusammenbringen des Bacteriums mit diesen Stoffen peinlichst vermieden werden. In Versuch Nro. 2 kam Wasser und in späteren Versuchen 0,2% Natronlaugelösung zum Gebrauch. Damit vermochte ich zwar eine Entfärbung, aber keine Auflösung der Plasmahülle zu erzielen. Es kann sich also nicht um eine „Gallerthülle" beim Milzbrandbacillus handeln.

Diese Plasmahülle glaube ich für die charakteristischen „kolbigen Verdickungen" verantwortlich machen zu müssen. An dem frischen Milzbrandbacillus ist bekanntermassen davon nichts wahrzunehmen. Hier keine Spur von kolbiger Anschwellung, Verdickung, Vertiefung der Enden, eine Erscheinung, welche von jeher die Aufmerksamkeit auf sich gelenkt hat. Anders, haben wir gesehen, stellt die Sache sich am getrockneten Milzbrandbacillus. Im Texte der Tafel XVII, Absatz 1, des bekannten Atlas der Bakterienkunde von Fränkel und Pfeiffer (19) findet sich eine diesbezügliche Aeusserung:

„Freilich tritt diese charakteristische Gestalt der Stäbchenenden keineswegs in allen Fällen gleichmässig sicher hervor. Namentlich die Vorbehandlung, die Erhitzung der Präparate ist von ganz unverkennbarem Einfluss, eine Thatsache, die in der sehr wichtigen Rolle ihre Erklärung findet, welche die Hülle der Bakterien, die Membran, bei der eigentümlichen Bildung der Enden spielt. Dieselbe zieht sich unter der Einwirkung der alkoholischen Farbstofflösung in ganz besonderer Weise zusammen und giebt so Veranlassung zu der Einkerbung u. s. w. der Bakterienenden. Desshalb lassen ungefärbte Präparate von allen diesen Dingen nichts erkennen, zeigen Milzbrandbazillen, die künstlichen Kulturen entnommen werden, in denen sich die Hülle der Bakterien bekanntlich gar nicht oder doch nur in unvollkommener Weise entwickelt, die beschriebene Gestalt der Endstücke nicht und alle Maassnahmen, welche die Membran überhaupt berühren, über-

triebene Erhitzung, Behandlung der Präparate mit Jodlösung u. s. w. hier von wesentlicher Bedeutung."

Dass schon bei der Trocknung der Ausstriche die Milzbrandbazillen diese Gestaltveränderung (Bildung der kolbigen Verdickungen) eingehen können, ein Vorgang, der sich unschwer unter dem Mikroskope verfolgen lässt, erwähnen diese Autoren nicht.

Wie lässt sich die eigentümliche Bildung der Enden des Milzbrandbacillus erklären?

Bei der Lostrennung der Segmente von der Hülle (Versuch Nr. 1) entstehen schwache Einkerbungen an der letzteren und zwar gerade an der Trennungsstelle zweier Segmente. Die Austrocknung hat aber weiterhin noch zur Folge, dass sich der Stab nach allen 3 Dimensionen zusammenzieht. Dass hiebei eine kolbige Verdickung der Enden bewirkt wird, ist durch das Vorhandensein solcher an den Bazillen trockener, ungefärbter Deckglasausstriche bewiesen. Da eine Verbindung zwischen Hülle und Segmenten nach der Differenzierung nicht mikroskopisch, etwa in Form von Fäden, beobachtet werden kann, die ein Mitziehen der Hülle bedingen könnten, so müssen zur Erklärung der Zusammenziehung ein Verlust flüssigen Inhaltes im Innern der Bazillen und die Kontraktilität der Hülle, deren Grad übrigens kein sehr erheblicher zu sein scheint, in Anspruch genommen werden. Vornehmlich bei der Zusammenziehung in der Längsrichtung muss das Glied im Gürtel enger werden, als an den Enden oder das Bild in die Ebene projiziert gedacht, müssen die Enden der Glieder im Vergleich zur Mitte breiter erscheinen.

Die Entstehung der hellen Lücke zwischen 2 Segmenten („Bakterienzellen" nach Johne) geschieht in der von Johne angegebenen Weise. Jedoch rücken nicht neu entstandene Bakterienzellen, sondern die Segmente auseinander (Versuch Nr. 1). Trennt sich der Protoplasmakörper nicht vollständig an einer Stelle, so kann eine Einkerbung daselbst bleiben (Versuch Nr. 1). Diese eingekerbte Stelle dürfte identisch sein mit der einer „sich teilenden Bakterienzelle", wodurch diese scheinbar eine kolbige Anschwellung nach Johne bekommt. Die Lücken haben die geringste Affinität zum Farbstoff (Versuch Nr. 3) und sind bei schwacher Färbung nicht oder ganz schwach gefärbt. Was für eine Substanz sich in der Lücke befindet, vermag ich nicht zu entscheiden. Selbstverständlich ist aber eine da, die sich durch ein besonderes Licht-

brechungsvermögen und ein abweichendes Verhalten zum Farbstoff von den nachbarlichen Teilen unterscheidet.

Nach dieser vergleichenden Darstellung der morphologischen Verhältnisse des Milzbrandbacillus muss ich seine eigentümliche kolbige Bildung der Enden anerkennen; dagegen existieren die flachen Vertiefungen der Enden, welche einen ⌒förmigen Zwischenraum zwischen je 2 Gliedern bedingen sollen, nicht. Eine Lücke ist indessen vorhanden. Beide Erscheinungen müssen aber mit demselben Rechte als brauchbar für die Diagnose angesehen werden, wie die Differenzierung des Milzbrandbacillus mittelst der Johne'schen und der von mir späterhin angeführten Färbemethode.

Nach der Erledigung der Frage von der Form und Einrichtung des Milzbrandbacillus wende ich mich nunmehr derjenigen von der Färbung zu. Um dem Praktiker ein unfehlbares Verfahren an die Hand zu geben, hat Johne (l. c. p. 251) eine Vorschrift mitgeteilt, mittelst welcher er bei genauem Einhalten stets mit Leichtigkeit und mit Sicherheit die Darstellung der von ihm sogenanten „Gallerthülle" des Milzbrandbacillus erhalten haben will. Sie lautet folgendermassen:

„Wenn man in der gewöhnlichen Weise hergestellte, gut lufttrockene Deckglaspräparate von Milzsaft ganz leicht 3mal durch die Flamme des Bunsenbrenners zieht, dann $^1/_4$ bis höchstens $^1/_2$ Minute (je nach der Dicke der aufgetrockneten Schicht) mit einer aufgetropften 2% wässrigen Lösung von Gentiana-Violett färbt, hierauf einen Moment in reinem Wasser, dann 6 bis 10 Sekunden lang (wiederum je nach der Dicke der Schicht) in einer $^1/_2$—, besser 1% wässerigen Essigsäurelösung, hierauf wieder recht sorgfältig in reinem Wasser abspült, schliesslich das nasse Deckglas lege artis auf den Objektträger legt, das Wasser von seiner Oberseite entfernt und endlich das fertige Präparat (direkt in Wasser!) unter das Mikroskop bringt," so kann man die betreffenden morphologischen Verhältnisse des Milzbrandbacillus, „mit der allergrössten Klarheit" sehen.

Bei der Nachprüfung dieses Verfahrens, wozu mir im hiesigen pathologischen Institute, wo alljährlich Kurse abzuhalten sind, in welchen die mikroskopische Erkennung des Milzbrandbacillus eine wichtige Rolle spielt, reichliche

Gelegenheit geboten war, ergaben die trotz strengen Einhaltens der Johne'schen Vorschrift vergenommenen Versuche durchaus keine befriedigenden Resultate, insbesondere gelang es Praktikern im bakteriologischen Kurse fast gar nie, die „Kapsel" zu erzeugen. Sehr häufig war eine distinkte Trennung der Teile gar nicht vorhanden oder liess dieselbe sehr viel zu wünschen übrig. Ich glaubte daher, aufgrund meiner Erfahrungen eine andere Methode aufstellen zu müssen, die mit gutem Erfolge zu handhaben ist. Um vollkommen der Sache gerecht zu werden, mussten noch weitere Versuche angestellt werden, die ich der Darstellung meines Verfahrens voraufschicke.

6. Versuch.

Erscheinungen beim Färben mit sehr schwachen Farbstofflösungen; ferner solche beim Färben mit konzentrierten Farbstofflösungen bei kurzer Einwirkung.

Hatte ich in Versuch Nr. 3 einen stark verdünnten Farbstoff dem Präparat zufliessen lassen, so konnte ich keine Sattfärbung des Milzbrandbacillus in allen seinen Teilen erreichen. Beim Zufliessen von konzentriertem Farbstoff gab es einen Moment in der Färbung, in welcher eine deutliche Differenzierung der Stäbe zu sehen war.

Diesen Thatsachen entsprechend liess ich auf ein lufttrockenes Ausstrichpräparat stark verdünnten Farbstoff geraume Zeit einwirken und erhielt nach dem Abspülen mit Wasser eine Differenzierung der Bazillen, die oftmals an Klarheit nichts zu wünschen übrig liess. Einen andern Deckglasausstrich zog ich, so rasch wie möglich, durch ein Schälchen mit konzentriertem Farbstoff. Nach der Abspülung mit Wasser trat ebenfalls sehr häufig eine Differenzierung in schönster Weise auf.

7. Versuch.

Gedankengang bei der Vornahme der Versuche.

Einleitend habe ich ausgesprochen, dass die vorgenommenen Versuche nicht in der Reihenfolge stattfanden, wie sie in der Arbeit eingehalten wurden. Sie gingen von der Nachprüfung des Johne'schen Verfahrens aus. Dabei fiel mir auf, dass Präparate, bei denen eine stärkere, als die übliche Erhitzung stattgefunden hatte, die besseren Bilder lieferten. Damit war mein Augenmerk auf die Er-

wärmung der Präparate gerichtet. Lieferte die Johne'sche Methode kein günstiges Resultat, so trat die Differenzierung bald beim vorsichtigen, nachträglichen Erwärmen auf. Ich liess die Essigsäure hernach weg, behandelte aber im übrigen die Präparate gleich (2% Gentianaviolettlösung mit $^1/_4$ bis höchstens $^1/_2$ Minute Einwirkungsdauer). Schon nach 3—6maligem Durchziehen des Präparates (Objektträger mit durch Wasser benetztem Deckglas durch die Flamme des Bunsenbrenners) konnte ich einen Einfluss der Wärme beobachten. Es schien, als trete ein mittlerer Teil satter, ein äusserer schwächer gefärbt hervor. Durch abgesetztes Weitererwärmen, wobei ich von Zeit zu Zeit Wasser aus Furcht vor dem Verbrennen des Präparates zufliessen liess, hatten sich die Teile immer deutlicher differenziert. Oft gegen 200mal vermochte ich das Präparat durch die Flamme zu ziehen ohne eine wesentliche Veränderung oder gar eine Vernichtung der Bazillen. Bei allzu reichlichem und andauerndem Erwärmen fand allmählich ein Abblassen der Bazillen statt. Von dem Gedanken ausgehend, es dürfte ein weniger langes Einwirken des Farbstoffes ein kürzeres Erwärmen zum Eintritt der Differenzierung benötigen, färbte ich rasch und erwärmte. Mein Gedanke wurde verwirklicht. Später zog ich, ohne zu erhitzen, das Präparat so rasch wie möglich durch den Farbstoff und bekam auch so fast durchweg ein günstiges Resultat. Dies erweckte bei mir Bedenken über die Erklärungen Johne's, die er über die morphologischen Verhältnisse des Milzbrandbacillus gab. Schritt für Schritt rückwärts gehend, kam ich schliesslich auf das Verhalten des Milzbrandbacillus im ungefärbten Zustande und bei der Austrocknung.

8. Versuch.

Prüfung verschiedener Farbstofflösungen etc. auf ihre Verwendbarkeit.

Bei der Färbung mit Gentianaviolett und nachfolgendem Erhitzen des Präparates erzielte ich stets mit sicherem Erfolge eine Differenzierung der Bestandteile des Milzbrandbacillus. Indessen erschien mir die Einseitigkeit einer Färbung mit dieser Farbe nicht geboten, weshalb ich die verschiedensten Anilinfarbstoffe einer Prüfung unterzog. Dabei erhielt ich als Resultat, dass sich für die Sichtbarmachung einer Differenzierung der Bestandteile des Milzbrandbacillus mittelst des Zufliessenlassens (Versuch No. 3) fast alle Anilinfarben eignen. Für praktische Zwecke sind aber rasch

und satt färbende Farbstoffe (Violette und Fuchsine) unerlässlich. Methylenblau legte eine ausgesprochene Affinität gegenüber dem Kerne (auch beim Aufkochen der Farblösung) an den Tag. Die Hülle färbte sich dabei kaum, der äussere Contour etwas besser; er erschien oftmals eigentümlich punktiert. Wenn Weichselbaum und Günther[1]) die Darstellung der „kapselähnlichen Hülle" durch Methylenblau nicht selten gelang, so ist die Erklärung hiefür in der im Vergleich zu den übrigen Anilinfarben eigenartigen Eigenschaft dieses Farbstoffs gelegen. Die von Weichselbaum erwähnte Rosafärbung der Hülle ist auf Rechnung der Lichtbrechung zu stellen und keine Wirkung der Farbe. Bei Präparaten aus dem Blut sah ich diese Erscheinung unter Gebrauch eines Seibert-Instrumentes mit Achromatobjektiven fast durchweg auftreten; bei Anwendung eines Zeiss mit Apochromatsystemen gar nicht.

Nicht allein einfache, sondern auch zusammengesetzte Farbstofflösungen sind zu einer differenzierenden Darstellung des Milzbrandbacillus verwendbar, so Ziehl'sche Lösung und Karbolmethylenblau, welche Lösungen schon Carl Fränkel (l. c.) benützte. Dieser Autor gibt an, dass er „bei rascher Färbung der Präparate" mit diesen Lösungen eine Differenzierung erzielte. Auch die Löffler'sche Methylenblaulösung und die Ehrlich'sche Lösung sind zweckmässig. Erwähnt sei aber, dass sich alle die genannten Lösungen für ein nachheriges Erwärmen nicht gut eignen. Die Zeit der Einwirkung bis zum Erfolg muss bei diesen Lösungen ausprobiert werden.

9. Versuch.

Verhalten der Milzbrandbazillen nach langem Lufttrockenliegen.

Um dieses zu ermitteln, legte ich Deckgläser mit ausgestrichener Milzpulpa eines frisch verendeten Impftieres unter Glasglocken zum Schutz gegen Bestäubung zurück. In Zeitabschnitten bis zu $^1/_2$ Jahre untersuchte ich dieselben, wie in Versuch No. 1 angegeben. Die früher beschriebenen Bilder der ausgetrockneten Milzbrandbazillen (Versuch No. 1) waren noch sehr deutlich vorhanden.

Solche Präparate zeigten ein anderes Verhalten gegen die Erwärmung nach kurzer Färbung, als erst

[1]) Das Günther'sche Photogramm (l. c. Tafel V, Fig. 25) lässt gegenüber denen von Johne (l. c. Tafel VI, 2 und 9), die vorzüglich gelungen sind, viel zu wünschen übrig.

kurze Zeit lufttrockene. Dieselbe musste ganz vorsichtig angewandt werden; namentlich waren sehr lange Zeit lufttrockene Präparate äusserst empfindlich. Mir scheint, als ob für dieses Verhalten ein allmähliches Verschwinden der Reaktionsfähigkeit der Hülle verantwortlich gemacht werden muss. Auch das Verhalten gegenüber der Farbstofflösung war ein anderes. Selbst konzentrierte Lösungen durften mitunter lange Zeit einwirken, ohne eine Sattfärbung der Bazillen zu vermögen. Oft nach einer Stunde Einwirkung war eine distinkte Differenzierung zu konstatieren. Auch bei einige Tage luftrockenen Präparaten macht sich dieses Verhalten bemerkbar.

Wenn, wie Johne mitteilt, auf 2 älteren Photographieen eine „Gallerthülle“ an Milzbrandbazillen deutlich bemerkbar war, so ist dieses interessant. Ziehe ich die Versuche No. 3, 4, 7 und 9 in Betracht, die mich lehrten, dass zur Darstellung der Hülle andere Mittel, als kurze Farbeeinwirkung, schwache Farbstofflösungen, tagelanges Lufttrockensein vor der Färbung oder in seiner Tinktionsfähigkeit abgeschwächter Farbstoff, nicht absolut erforderlich sind, so ist dieses nicht gerade auffällig. Es dürfte manchem Praktiker hin und wieder eine Differenzierung des Milzbrandbacillus zu Gesicht gekommen sein. Ein dem Lehrkörper der Stuttgarter Tierärztlichen Hochschule angehöriger Herr hatte die Liebenswürdigkeit, mich von einem derartigen Funde in Kenntnis zu setzen. Die Differenzierung war bei ziemlich schwachem Farbstoff eingetreten und liess nichts zu wünschen übrig.

Schon vor Monaten unterzog ich die sehr zahlreichen Dauerpräparate unseres Institutes einer Besichtigung. Vielfach boten sich mir Exemplare mit schöner Differenzierung dar, ein Beweis dafür, dass vor dieser Zeit schon oft differenzierte Färbung des Milzbrandbacillus unabsichtlich zu Stande gekommen sein mag.

Nachdem diese Versuche, welche ich zum Verständnis meines Färbungsverfahrens anführen zu müssen glaubte, erwähnt sind, lasse ich die Verfahren im nachstehenden folgen:

I. Einfaches Färbeverfahren:

1) Der gut lufttrockene Deckglasausstrich wird dreimal durch die Flamme gezogen,

2) dann schnell in einen wässerigen, rasch färbenden (Violette oder Fuchsine) Anilin-Farbstoff getaucht und abgespült:

3) hierauf kommt auf die bestrichene Fläche des Deckelglases destilliertes Wasser, und wird das Deckglas mit der bestrichenen Seite nach oben 6—12 mal (bei gut lufttrockenen Präparaten genügt 6 mal) durch die Flamme gezogen, sodann abgespült.

4) Schliesslich wird das nasse Deckglas auf den Objektträger gelegt und in der gewöhnlichen Weise untersucht.

Bei nicht deutlich erscheinender Kapsel wird das Präparat und zwar Objektträger mit in Wasser aufgelegtem Deckglase noch einigemale durch die Flamme gezogen.

Anstatt das gefärbte „Deckglas" durch die Flamme zu ziehen, kann auch letzteres Verfahren in zweckmässiger Weise verwendet werden, d. h. nach 3maligem Durchziehen des ungefärbten Deckglases färbt man schnell, legt das Deckglas, wie gewöhnlich, auf und zieht vor dem Abfliessen des auf der Oberseite befindlichen Wassers das ganze Präparat 3—12 mal durch die Flamme.

II. Doppelfärbung:

Der gut lufttrockene, am besten einige Stunden gelegene Deckglasausstrich wird kunstgerecht in der gewöhnlichen Weise vorbereitet.

Dann tropft man die Methylenblaulösung[1]) auf das Deckglas, erwärmt über der Flamme bis zum Aufkochen und spült hernach reichlich mit destilliertem Wasser ab.

Nun lässt man die Fuchsinlösung[1]) höchstens 5 Sekunden einwirken und spült wiederum ab.

Man untersucht wie gewöhnlich.

Schon bei 300facher Vergrösserung erscheinen bei gelungener Färbung die inneren Teile dunkelblau, die Hülle leicht rosarot, ihr Contour dunkelrot. Bei Anwendung stärkerer Vergrösserung wird das Bild sehr prächtig, wohl am schönsten bei 1000facher Vergrösserung.

---

[1]) Alkoholisch-wässerige Lösungen im Verhältnis von 1 : 10 : 100.

III. Darstellung des Kernkörperchens (Kernstäbchen):

„Auf mindestens 1 Tag lufttrockene Präparate, **bei denen die Kadaver nicht** zu lange gelegen haben dürfen, lässt man, **ohne das Deckglas vorher durch die Flamme zu ziehen**, kurz eine wässerig-alkoholische Fuchsinlösung (1 : 10 : 100) einwirken.

Hernach wird abgespült und Objektträger mit aufgelegtem Deckglas bei ständiger Kontrolierung des Präparates unter dem Mikroskop mit grösster Vorsicht ein um das andere mal leicht durch die Flamme gezogen."

Das Kernkörperchen erscheint als dunkelrotes Stäbchen innerhalb des Protoplasmakörpers. Richtiger Gebrauch der Mikrometerschraube ist unbedingtes Erfordernis; denn die geringste Abweichung in der Einstellung bringt dasselbe aus der Sehfläche. In liebenswürdiger Weise übersandte mir Herr Professor Dr. Gratia in Brüssel seine Arbeit[1]) (36), in welcher er auf Tafel II, Figur 2, das Kernkörperchen an verschiedenen Bazillen, schön ausgeprägt bildlich, dargestellt hat. Im Texte der Arbeit erwähnt er von diesem Gebilde nichts, ein Zeichen, dass ihm seine Darstellung unbewusst gelungen ist.

Die vorgängige Erhitzung von Präparaten ist schon öfters zur Anwendung gelangt. Ehrlich[2]) gebrauchte sie als Konservierungs- und Fixationsmittel der Formelemente des Blutes, eine Methode, welche, späterhin von Koch (8) adoptiert, für die momentane mechanische Fixierung der Eiweisskörper am Deckglase sich als sehr dankbar erwies. Koch (l. c.) lehrte uns ferner, durch die Erhitzung das Färbungsvermögen der Anilinfarbstofflösungen zu erhöhen und die Zeit der Färbung abzukürzen. Buchner[3]) und Hüppe[4]) bedienten sich ihrer für die Sporenfärbung, Wahrlich[5]) erzielte damit eine Differenzierung des Bakterieninhaltes.

---

[1]) Die Arbeit konnte nicht mehr in der vorliegenden abgehandelt werden, da die letztere dem Abschluss nahe war.

[2]) Ehrlich, die spezifischen Granulationen des Blutes. Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft. Berlin 1879.

[3]) Buchner, über das Verhalten der Spaltpilzformen zu den Anilinfarben. Aerztliches Intelligenzblatt. 1884. Nro. 33. p. 370.

[4]) Hüppe, die Methoden der Bakterienforschung. 1891. 5. Aufl. p. 151.

[5]) Wahrlich, Referat: Baumgarten's bakteriologische Jahresberichte. 1891. p. 434.

Zur Nachbehandlung verwandte Unna[1]) die Erhitzung für Schnitte, um dadurch die Entwässerung und Aufhellung derselben in flüssigen Medien zu ersetzen. Nach meinem Wissen fand dieselbe in dieser Weise für die Herstellung einer Differenzierung der Bakterien nach der Färbung nicht statt. Die Erfahrung hat mich gelehrt, dass die Erhitzung als Nachbehandlung speziell für den Milzbrandbacillus die beste Art für diesen Zweck ist. Die Hülle wird dadurch entfärbt und durch den gleichzeitigen Gebrauch des Wassers auch etwas gequollen; daneben nimmt die Sattfärbung der Kerne an Intensität zu. Das Bild wird dadurch sehr scharf. Nur durch übertriebenes Erhitzen wird der Milzbrandbacillus zerstört. Auch andere Bakterien, welche ich auf ihr Verhalten prüfte, traten nach dem Erwärmen schärfer aus dem sich in der Farbe abschwächenden Strukturbild hervor, ohne geschädigt zu werden.

Aus den vorerwähnten Versuchen kam mir immer wieder der Gedanke, es dürfte die „Plasmahülle“ auch durch die übrigen sog. Entfärbungsmittel zur Darstellung gebracht werden können. Dementsprechend stellte ich weitere Versuche an. Sie sollen ebenfalls zeigen, dass es sich nicht um eine „Gallerthülle“ handelt, und dass die Sichtbarmachung der „Plasmahülle“ ein gewöhnlicher Entfärbungsprozess ist.

10. Versuch.

Anwendung verschiedener Entfärbungsmittel.

Neben der von Ehrlich[2]) zur nachträglichen Differenzierung diverser Färbungen empfohlenen Essigsäure war bekannt, dass sich dazu Säuren allgemein besonders eignen. Daneben stand als bedeutender Rivale der Alkohol. Man spricht daher stets von Säure- und Alkoholentfärbung; ferner von der Entfärbung mittelst der Verbindung beider im Säure-Alkohol. Auch andere Entfärbungsmittel fanden Verwendung. Für bakteriologische Zwecke ist der Gebrauch dieser Mittel noch kein so ausgedehnter, wie in der Histiologie.

Ich habe eine Anzahl derartiger Mittel in den verschiedensten Konzentrationen geprüft. Dabei war es mir

[1]) Unna, zur Färbung der Leprabacillen. Leprastudien. 1886.
[2]) Beiträge zur Kenntnis der Anilinfärbungen und ihre Verwendung in der mikroskopischen Technik (Archiv f. mikrosk. Anat. Bd. XIII. p. 263).

nicht um die Ausarbeitung exakter Verfahren für die färberische Darstellung der Hülle zu thun, sondern um das allgemeine Verhalten der Mittel. Ich probierte demnach nicht jegliche zum Erfolg führende Konzentration eines Mittels, vielmehr genügte mir ein günstiges Resultat mit demselben; denn es war damit der Beweis für die Brauchbarkeit des Mittels gegeben. Nur im negativen Falle versuchte ich solange, bis ich von dem Ja oder Nein der Verwendbarkeit überzeugt sein konnte. Manchem Lusttragenden, der genauere Kenntnis von dem Verhalten der Mittel nehmen will, mag in meiner Versuchsreihe Anhalt und Anregung gegeben sein. Dem nachherigen Erhitzen gegenüber verhielten sich bei nicht vollkommen distinkter Differenzierung der Teile die einen zugänglich, die andern ablehnend. Die Ergebnisse waren folgende:

Gute Resultate erhielt ich: 1) mit verdünnter Salzsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure in wässerigen und alkoholischen Lösungen; ferner in wässeriger Milchsäure- und Karbolsäurelösung;

2) durch Natronlauge, absoluten Alkohol, 85% Alkohol, Alkohol und Wasser zu gleichen Teilen, Xylol, Terpentinöl, Nelkenöl, Aether, Chloroform, Glycerin.

Ich hebe hervor, dass die Wirkung dieser Mittel durch nachheriges methodisches Erwärmen verbessert werden kann, falls der Erfolg zu wünschen übrig lässt.

Weniger gute Resultate erzielte ich mit Kochsalz- und Sodalösungen.

Dieselben bewirkten mitunter eigentümlich blasige Figuren der Hülle. Eine nachherige Erwärmung besserte nach dieser Behandlung nichts, sondern schadete mehr.

Schlechte Resultate: mit Jod-, Eisenchlorid-, Kalium hypermanganicum-, Kalium bichromicum-, Argentum nitricum-Lösungen.

11. Versuch.

Anwendung alkoholischer Anilinfarbstofflösungen.

Mit solchen Lösungen rasch färbender Farbstoffe kann die Plasmahülle sehr hübsch erzeugt werden, ohne dass nachträgliches Erwärmen erforderlich ist. Jedoch ist eine kräftige Konzentration zum guten Erfolge Erfordernis. Die Differenzierung tritt auch bei schwächeren Lösungen ein; das Bild ist aber dann ziemlich blass. Schöne Resultate und in kurzer Zeit (20—30 Sekunden) erhielt ich durch

konzentrierte alkoholische Gentiana-Violett- und Fuchsinlösungen. Bei Methylenblau muss die Einwirkung Minuten lang geschehen. Von dem eigentümlichen Verhalten der wässerigen Methylenblaulösungen habe ich schon früher gesprochen.

Diese letztere Thatsache hat bereits durch die Holzendorff'sche Mitteilung (37) eine Bestätigung erfahren. Auf einen Umstand sei aber hingewiesen. An längere Zeit mit alkoholischen Farbstofflösungen behandelten Präparaten macht sich eine starke und mitunter höchst unregelmässige, das klare Bild störende Schrumpfung der Milzbrandbazillen bemerkbar. Konzentrierte alkoholische Gentiana-Violett- oder Fuchsinlösungen verdienen wegen ihrer raschen Tinktionskraft den Vorzug vor dem Methylenblau.

Nachdem ich mich von dem sicheren Erfolge meiner Methode an von Impftieren und aus dem Blut oder Milzsaft verwendeter Haustiere stammenden Präparaten überzeugt hatte, waren noch die Fragen zu erledigen, wie lange nach dem Tode des Tieres die Plasmahülle noch darstellbar ist; ferner, ob sich nicht an kultivierten Bazillen oder an anderen mit den Milzbrandbazillen verwechselbaren Bakterien eine solche darstellen lässt. Zu diesem Zwecke wurden die folgenden Versuche vorgenommen.

12. Versuch.

Wie lange nach dem Tode der Tiere ist die Plasmahülle noch darstellbar?

Zur Lösung der Frage liess ich Kadaver von Impftieren bei Zimmertemperatur verschieden lange Zeit liegen. Ich war im Stande, nach 4—5 Tagen noch deutliche Differenzierung der Bazillen zu erzielen, nur kamen mir dieselben bisweilen sehr schmal vor. In den Präparaten aus dem Blut oder Milzsaft einer an Milzbrand verendeten Kuh konnte ich nach 6 Tagen zwischen den zahlreichen Fäulnisbakterien noch Milzbrandbazillen mit scharfer Differenzierung erkennen. Bei Kadavern, die ich 24 Stunden Temperaturen von 30—36° C. aussetzte, fanden sich an den Bazillen ganz hübsche Hüllen vor. Nach dieser Zeit waren keine mehr zu sehen. Es muss dahingestellt bleiben, ob die Milzbrandbazillen dabei ganz verschwunden sind, oder ob nur die Hülle verloren gegangen war. Ich neige der Ansicht zu, dass nur noch die innere, kernartige Protoplasmamasse zurückgeblieben war, ähnlich wie man dies bei der Gram'schen Färbung beobachtet.

Allgemein möchte ich die aufgeworfene Frage nach meinen Erfahrnngen dahin beantworten, dass am 4. Tage post mortem noch verhältnismässig zahlreiche, gut differenzierte Bazillen zur Darstellung gebracht werden können.

13. Versuch.

Ist an kultivierten Milzbrandbazillen eine Differenzierung möglich?

Die Züchtungen nahm ich auf den verschiedenen Nährböden vor, wobei ich entweder das Material dem Herzblute der Impftiere oder Reinkulturen entnahm.

Niemals vermochte ich an derartigen, künstlichen Nährsubstraten entstammenden Milzbrandbazillen eine Differenzierung, wie sie den getrockneten, aus dem Tierkörper entnommenen Bazillen zukommt, zu erzeugen.

Die kultivierten Milzbrandbazillen zeigten aber eine eigentümliche Erscheinung. Ist das Wachstum der Kultur (z. B. in Agar-Agar) soweit vorgeschritten, dass die charakteristische Form des Stiches schwach erscheint und wird dann ein Deckglastrockenpräparat hergestellt, so werden wir im Innern der Bazillen einen dunklen Körper, ähnlich dem bei mit Wasser behandelten Präparaten (Versuch Nr. 2) oder dem nicht trockener, frischer Präparate (Versuch Nr. 1) zu sehen bekommen. Bei dem Zufliessen der Farbe (Versuch Nr. 3) färbte sich auch in diesem Falle ganz deutlich der Innenkörper zuerst. Die Färbung eines äusseren Kontour's war nicht zu konstatieren. Die Färbung der übrigen Teile erfolgt sehr rasch.

Trotz vieler Mühe, sei es durch Behandlung mit schwachen oder starken, rasch einwirkenden Farbstofflösungen, sei es durch Gebrauch der erwähnten, zu Resultaten an aus dem Tierkörper entstammenden Präparaten führenden Methoden, auch an Kulturen entnommenen Milzbrandbazillen eine distinkte Differenzierung zu erzielen, gingen doch alle Versuche fehl. Auch das Bestreben, den Vorgang einer Retraktion des Protoplasmakörpers (Versuch Nr. 1) zu beobachten, hatte keinen Erfolg.

14. Versuch.

Lässt sich bei Milzbrandbazillen ähnlichen Bakterien eine Hülle erzeugen?

Vor allem kämen hier einige in Tierleichen sich findende, von gewissen Autoren als „Kadaverbazillen“ be-

zeichnete Bakterien in Betracht, welche mit den Milzbrandbazillen eine gewisse Uebereinstimmung zeigen, aber meines Wissens weder näher untersucht, noch benannt sind. Zur Untersuchung bot sich mir reichliche Gelegenheit bei den zahlreichen Obduktionen in unserem Institute und an den vielen Organteilen verschiedener Tiere, welche zur Einsendung gelangen. Kitt (l. c. p. 224) gibt an, Bakterien gesehen zu haben, welche dem Milzbrandbacillus glichen und dazu noch eine ähnliche „Kapsel“ zur Schau trugen. Dieser Thatsache muss ich zustimmen. Des öfteren boten sich auch mir Bakterien dar, welche den Milzbrandbazillen nicht unähnlich waren. Indessen, wer die Plasmahülle des Milzbrandbacillus kennt, kann trotz der Hülle jener Bakterien dieselben nicht für Milzbrandbazillen halten. An der Hülle des Milzbrandbazillus ist stets eine äussere, deutliche Kontourlinie vorhanden, die mir bei den andern Bazillen nie zu Gesicht kam. Dann zeigen weiterhin die letztgenannten Bakterien die schon früher erwähnten Eigentümlichkeiten ihrer „Kapsel“. Eine Doppelfärbung war niemals möglich.

Zu weiteren Untersuchungen liess ich Kadaver zur Fäulnis liegen. Auch hier dieselben Wahrnehmungen.

Der Bacillus subtilis, die Bakterien des malignen Oedems und des Rauschbrands müssen ebenfalls nach meinen Untersuchungen ausgeschlossen werden.

Am Ende dieser Arbeit angelangt, erübrigt mir noch, meine aus den Versuchen und aus den Angaben der Litteratur resultierende Anschauung über die morphologischen Verhältnisse des Milzbrandbacillus in zusammenfassenden Schlussworten darzuthun. Dabei muss ich nochmals mit Nachdruck darauf hinweisen, dass der Milzbrandbacillus bei der Antrocknung am Deckglase nicht unwesentliche Veränderungen durchmacht, wofür die am gefärbten Bacillus abzunehmenden Erscheinungen überzeugend sprechen. Aus den Beschreibungen erster Kapazitäten auf dem Gebiet bakteriologischer Forschung ist ersichtlich, dass erst der „getrocknete und gefärbte“ Milzbrandbacillus die bekannten charakteristischen Erscheinungen aufweist. Demnach dürfen wir einzig und allein nur von „frischen und ungefärbten“ Präparaten ein naturgetreues, ganz sicheres und zuverlässiges Aussehen des Milzbrandbacillus erwarten. Antrocknung und Färbung

des Milzbrandbacillus ändert durchweg seine Gestalt; wir sehen danach sein verstelltes, der natürlichen Einrichtung nicht entsprechendes Bild, also mehr oder weniger ein Kunstprodukt. Diesem verschiedenen Verhalten des Milzbrandbacillus („frisch; getrocknet und ungefärbt; getrocknet und gefärbt") entsprechend ist eine strenge Scheidung bei der Beschreibung der morphologischen Verhältnisse desselben absolut erforderlich.

Zusammengefasst stellen sich die morphologischen Verhältnisse des Milzbrandbacillus, abgesehen von seiner Grösse, folgendermassen:

1. Der „frische uud ungefärbte" Milzbrandbacillus ist, bei reichlicher Lichtmenge betrachtet, ein ungegliederter Stab mit homogenem, glashellem Inhalt. Bei zweckmässiger Abblendung zeigt er sich in lose zusammenhängende, grosse Glieder bezw. Einzelstäbe geteilt oder mit Andeutungen der Teilung (Einkerbungen) versehen. An den Gliedern lassen sich 3 Schichten wahrnehmen: eine dunkelgraue, schmale, nirgends eingezogene oder eingekerbte Aussenschicht, eine breitere, hellere Mittelschicht und ein von der letzteren Schicht vollkommen umschlossener, ungeteilter Körper. Die Enden sind halbkugelig.

2. Bei der Antrocknung an das Deckglas macht der Milzbrandbacillus eine eigentümliche Formveränderung in Folge Retraction seines Protoplasmakörpers durch. Der „getrocknete und ungefärbte" Milzbrandbacillus ist alsdann differenziert in Plasmahülle, Protoplasmakörper (Segmente oder Kerne) und Kernkörperchen (Kernstäbchen).

3. Durch bestimmte Färbeverfahren lassen sich die differenzierten Teile des Milzbrandbacillus gefärbt zur Darstellung bringen.

4. Bei der Retraction des Protoplasmakörpers teilt sich dieser in die genannten Kerne (Segmente); dagegen wird die Plasmahülle nicht durch die Teilung betroffen. Durch das Auseinanderweichen der Kerne entstehen zwischen ihnen Lücken, welche sich dem Farbstoff gegenüber sehr schwer zugänglich zeigen. Bei der gewöhnlichen, „nicht zu intensiven" Färbung mit Violetten oder Fuchsinen färbt sich die Plasmahülle mit. Die Lücken dagegen nehmen den Farbstoff nicht auf, wodurch der Milzbrandbacillus scheinbar eine

Gliederkette bildet, indem in regelmässigen Abständen die ungefärbten Lücken sichtbar sind; aussen wird aber die scheinbare Gliederkette durch die nicht geteilte Plasmahülle zusammengehalten. Bei „kräftiger“ Färbung kann der Farbstoff in die Lücken eindringen, wonach der Milzbrandbacillus nicht mehr als Gliederkette, sondern als solider Stab erscheint. Die Enden des nicht differenzierten Milzbrandbacillus sind in Folge der Färbung mehr oder weniger abgestutzt.

5. Eine tellerförmige Vertiefung an den Gliedenden des Milzbrandbacillus (der scheinbaren Gliederkette) und eine dadurch bedingte „⊃förmige“ Lücke sind nicht vorhanden. Dagegen können kolbige Anschwellungen an den Gliederenden bei der Antrocknung und Färbung entstehen in Folge Kontraktion der Plasmahülle.

6. Die Lücken und kolbigen Anschwellungen sind mit dem gleichen Rechte als charakteristische Kennzeichen des gefärbten Milzbrandbacillus anzusehen, wie eine Differenzierung desselben in Hülle, Kern und Kernstäbchen.

Bevor ich schliesse, habe ich noch folgendes zu erklären: Diese Arbeit ist im pathologischen Institute der Tierärztlichen Hochschule zu Stuttgart, an welchem ich zur Zeit Assistent bin, entstanden. Der Vorstand dieses Instituts, Herr Professor F. Lüpke, gab mir die Anregung zu derselben, verfolgte meine Untersuchungen fortgesetzt mit grossem Interesse und unterstützte mich mit Rat und That. Für diese förderliche Mitwirkung drängt es mich, ihm auch an dieser Stelle meinen besten Dank auszusprechen.

Litteraturverzeichnis.

1. Bollinger. Zur Pathologie des Milzbrands. München 1872.
2. Pollender. Mikroskopische und mikrochemische Untersuchung des Milzbrandblutes. Casper's Vierteljahrsschrift. Berlin 1855. 8. Bd. p. 112.
3. Brauell. Versuche und Untersuchungen betreffend den Milzbrand des Menschen und der Thiere. Virchow's Archiv 1857. XI. Bd. 2. Heft. p. 139.
4. Rayer. Mémoires de la société de Biologie. T. II. 1850 (Paris 1851).
5. Delafond. Traité sur la maladie de sang des bêtes à laine. Paris 1843.
6. Davaine. Comptes rendus de l'academie des sciences. T. LVII. 1863.
7. Fuchs. Ueber das Blut bei Milzbrand der Thiere. Magazin der gesammten Thierheilkunde von Gurlt und Hertwig. 1859. XIV. Bd. Heft 3. p. 34.
8. Koch. Zur Untersuchung von pathogenen Organismen. Mittheilungen aus dem kaiserl. Gesundheitsamt. 1881. 1. Bd.
9. Brauell. Weitere Mittheilungen über den Milzbrand und das Milzbrandblut. Virchow's Archiv 1858. Heft 5 und 6. p. 451.
10. Bender. Blutuntersuchungen bei Milzbrand. Zeitschrift für Parasitenkunde. Zürn und Hallier. Jena 1869. p. 186.
11. Semmer. Oestereichische Vierteljahrsschrift für wissenschaftliche Veterinär-Kunde. 1870. Bd. XXXIII. p. 74.
12. Siedamgrotzky. Zur Kenntnis der Milzbrandbakterien. Deutsche Zeitschrift für Thiermedizin 1873. Heft IV. p. 253.
13. Frisch. Ueber das Verhalten der Milzbrandbakterien gegenüber niederen Temperaturen. Wiener Sitzungsberichte 1880.
14. Koch. Verfahren zur Untersuchung, zum Konservieren und Photographieren der Bakterien. Beiträge zur Biologie der Pflanzen von F. Cohn. 1887. II. Bd. p. 428.
15. Flügge. Die Mikroorganismen. Leipzig 1886. p. 186.
16. Zürn und Plaut. Die pflanzlichen Parasiten in und auf dem Körper unserer Haussäugetiere. Weimar 1887. 2. Auflage.
17. Baumgarten. Lehrbuch der pathologischen Mykologie. Braunschweig 1890. II. Bd. p. 429.
18. Fränkel. Grundriss der Bakterienkunde. Berlin 1891. III. Aufl.
19. Fränkel und Pfeiffer. Mikrophotographischer Atlas der Bakterienkunde. Berlin 1892. Tafel XVI.
20. Kitt. Bakterienkunde und pathologische Mikroskopie. Wien 1893. II. Auflage. p. 213.
21. Günther. Einführung in das Studium der Bakteriologie. Leipzig 1893. III. Aufl. p 196.
22. Lüpke. Zur Morphologie des Milzbrandbacillus. Repertorium der Tierheilkunde. 1891. p. 71.
23. Cohn. Untersuchungen über Bakterien. Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. 3. 1875. p. 200.
24. Koch. Die Aetiologie der Milzbrandkrankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis. Beiträge zur Biologie der Pflanzen. 1877. II. Bd. p. 294.

25. Buchner. Nägeli, Untersuchungen über niedere Pilze. München und Leipzig 1882. p. 218.
26. Ernst. Ueber Kern- und Sporenbildung in Bakterien. Zeitschrift für Hygiene. Bd. V. p. 428.
27. Lutz. Zur Morphologie der Mikroorganismen der Lepra. Dermatologische Studien, herausgegeben von Unna. 1886. Heft 1.
28. Schottelius. Beobachtung kernartiger Körper im Innern von Spaltpilzen. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. 1888. IV. Bd. p. 704.
29. Serafini. Referat in Baumgarten's bakteriologischen Jahresberichten. 1888. p. 102.
30 Pane. Referat im Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. Bd. XII. p. 210.
31. Sjöbring. Ueber Kern und Theilung bei den Bakterien. Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. 1892. Bd XI. No. 3/4.
32. Weichselbaum. Grundriss der pathologischen Histologie. Leipzig und Wien 1892. p. 138.
33. Alexander-Lewin. Zur Histologie der akuten bakteriellen Entzündungen. Tübingen 1893.
34. Johne. Zur Kenntnis der Morphologie der Milzbrandbacillen. Deutsche Zeitschrift für Thiermedizin und vergleichende Pathologie. XIX. Bd. 4. Heft. p. 251.
35. Kitt. Neues aus der Seuchenlehre und Bakteriologie. Monatshefte für Thierheilkunde. V. Bd. p. 221.
36. Gratia. Du Diagnostik du Charbon bactéridien par l'examen microscopique du sang. Bruxelles 1894.
37. Holzendorff. Zur Färbung des Milzbrandbacillus nach Prof. Johne. Berliner Thierärztliche Wochenschrift. 1894. p. 91.

Erklärung der Abbildungen.

Die Photogramme wurden bei Gasglühlicht mit dem Spindler'schen Universalapparat unter Benützung eines Zeiss'schen Mikroskopes (Apochromat-Objektiv 2,0 mm und Okular 1) angefertigt. Vergrösserung 1 : 750 und 1 : 1000.

Tafel I. Fig. 1—4. Milzbrandbazillen aus dem Milzsaft einer Maus. Dieselben wurden nach 8 Tage lufttrocken gelegenen Präparaten ungefärbt und ohne jegliche Zusatzflüssigkeit photographiert. An den Bazillen ist die Plasmahülle, Protoplasmakörper und das Kernstäbchen sichtbar.

Tafel II. Fig. 5 und 6 sind schematische Zeichnungen.

Fig. 7 und 8. Milzbrandbazillen aus dem Milzsaft einer Maus. Die differenzierten Teile (Plasmahülle und Protoplasmakörper) sind gefärbt dargestellt.

Tafel I.

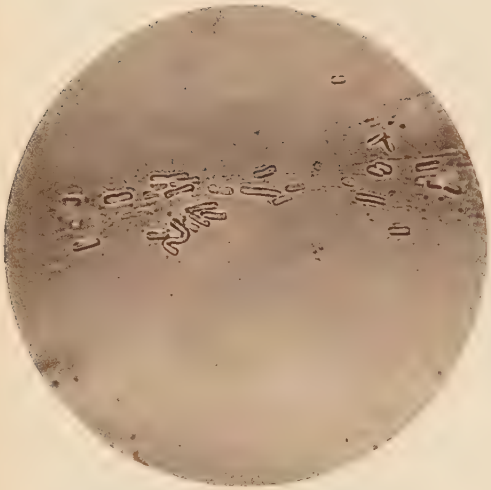

Fig. 1

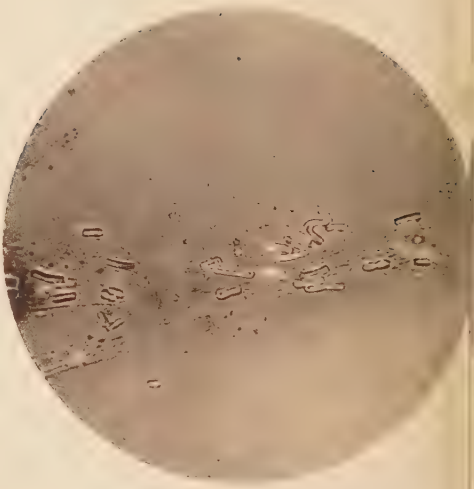

Fig. 2

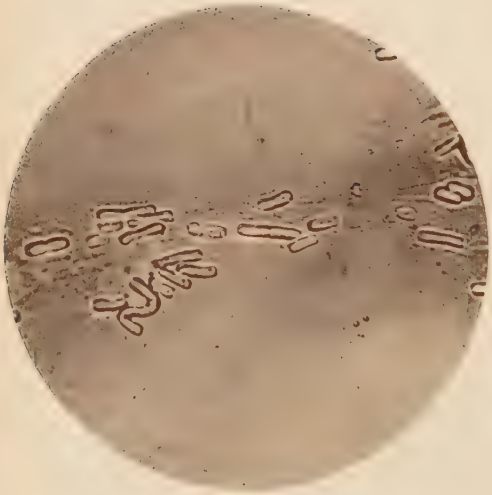

Fig. 3

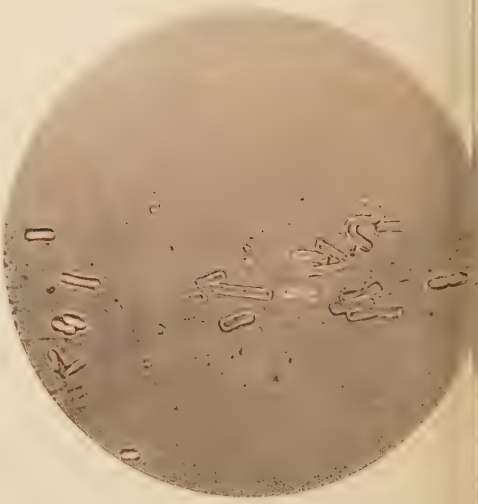

Fig. 4

Klett, photogr.

Tafel II.

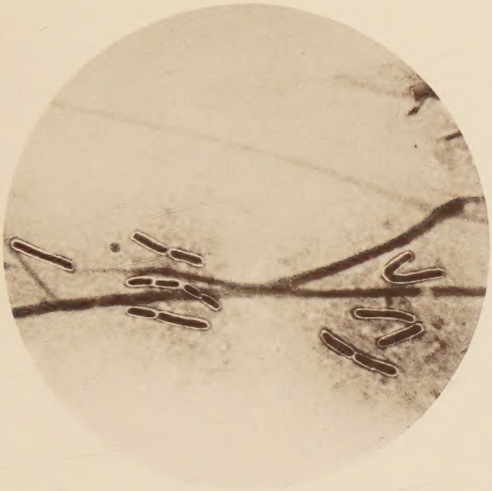

Fig. 5.

Fig. 7.

Fig. 8.

Fig. 6.

Kunstanstalt v. E. Schreiber, Stuttgart.